

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ANÄSTHESIOLOGIE
PROF. DR. BERNHARD M. GRAF, M. SC.
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Qualitätsmerkmale eines neuen Gerätes zur Gewinnung von
autologem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat und
Thrombozytenkonzentrat**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Fabian Streithoff

2012

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ANÄSTHESIOLOGIE
PROF. DR. BERNHARD M. GRAF, M. SC.
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Qualitätsmerkmale eines neuen Gerätes zur Gewinnung von
autologem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat und
Thrombozytenkonzentrat**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Fabian Streithoff

2012

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Ernil Hansen

2. Berichterstatter: PD Dr. Norbert Ahrens

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.2012

Inhalt

1	Einleitung.....	1
1.1	Die Etablierung der Autotransfusion.....	1
1.2	Vorteile der maschinellen Autotransfusion	7
1.3	Plasmapherese mit MAT-Geräten.....	13
1.4	Qualitätsmanagement der maschinellen Autotransfusion.....	15
2	Ziele der Arbeit	20
3	Material und Methodik.....	25
3.1	Funktionsweise des MAT-Gerätes „Xtra®“	25
3.1.1	Funktionsprinzip der Zentrifugenglocke	25
3.1.2	Der Autotransfusionskreislauf.....	30
3.1.3	Der Apheresekreislauf.....	32
3.2	Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Erythrozyten.....	35
3.2.1	Blutspenden und deren Aufbereitung.....	35
3.2.2	Versuchsaufbau.....	36
3.2.3	Versuchsablauf.....	39
3.2.4	Probenentnahme	41
3.2.5	Messparameter	41
3.2.6	Auswertung der Ergebnisse.....	42
3.2.6.1	Berechnete Parameter	42
3.2.6.2	Direkte Parameter.....	44
3.3	Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Thrombozyten	45

3.3.1	Versuchsaufbau.....	45
3.3.2	Blutspenden und deren Aufbereitung.....	45
3.3.3	Versuchsablauf.....	46
3.3.4	Probenentnahme	47
3.3.5	Messparameter	49
3.3.6	Auswertung der Ergebnisse.....	50
3.3.6.1	Berechnete Parameter	50
3.3.6.2	Direkte Parameter.....	51
3.4	Qualitätsparameter der maschinellen Aufbereitung von Blutbestandteilen.....	52
3.4.1	Zelluläre Parameter	52
3.4.2	Lösliche Parameter	53
3.4.2.1	Albumin, Gesamteiweiß und freies Hämoglobin.....	53
3.4.2.2	Kalium.....	55
3.4.2.3	Heparin	55
3.4.2.4	pH-Wert.....	56
3.4.3	Thrombozyten-Parameter.....	56
3.4.3.1	Größe und Volumen der Thrombozyten	56
3.4.3.2	Morphologie der Thrombozyten.....	57
3.4.3.3	Vitalität der Thrombozyten – hypotonic shock response	58
3.4.3.4	Funktionalität der Thrombozyten – Aggregometrie	60
3.4.3.5	Aktivierung der Thrombozyten – β -Thromboglobulin	61
3.4.3.6	Aktivierung der Thrombozyten – lösliches P-Selektin.....	63
3.5	Statistik.....	65
4	Ergebnisse.....	66

4.1	Maschinelle Aufbereitung von Erythrozyten.....	66
4.1.1	Verarbeitungszeit.....	66
4.1.2	Erythrozytenproduktion.....	71
4.1.3	Produkthämatokrit.....	75
4.1.4	Erythrozytenausbeute	80
4.1.5	Leukozytenausbeute	85
4.1.6	Thrombozytenausbeute	89
4.1.7	Proteinelimination.....	93
4.1.8	Albuminelimination.....	98
4.1.9	Elimination von freiem Hämoglobin.....	102
4.1.10	Kaliumelimination.....	106
4.1.11	Heparinelimination.....	111
4.2	Maschinelle Aufbereitung von Thrombozyten.....	117
4.2.1	Thrombozytenausbeute	117
4.2.2	Thrombozytenanreicherung	119
4.2.3	Gesamteiweiß.....	122
4.2.4	Freies Hämoglobin	124
4.2.5	pH-Wert.....	127
4.2.6	Mittleres Plättchenvolumen	130
4.2.7	Morphologie der Thrombozyten.....	132
4.2.8	Vitalität der Thrombozyten – hypotonic shock response	136
4.2.9	Funktionalität der Thrombozyten – Aggregometrie	139
4.2.10	Aktivierung der Thrombozyten – β -Thromboglobulin	143
4.2.11	Aktivierung der Thrombozyten – lösliches P-Selektin.....	151

5	Diskussion	158
5.1	Maschinelle Aufbereitung von Erythrozyten.....	158
5.1.1	Produkthämatokrit.....	158
5.1.2	Proteinelimination.....	160
5.1.3	Erythrozytenausbeute	162
5.1.4	Elimination von freiem Hämoglobin.....	165
5.1.5	Kaliumelimination.....	170
5.1.6	Erythrozytenproduktion.....	173
5.1.7	Verarbeitungszeit.....	176
5.1.8	Leukozytenausbeute	178
5.1.9	Heparinelimination.....	184
5.1.10	Albuminelimination.....	187
5.1.11	Thrombozytenausbeute	188
5.2	Maschinelle Aufbereitung von Thrombozyten.....	192
5.2.1	Begriffsklärung „Thrombozytenkonzentrate“	192
5.2.2	Thrombozytenkonzentration.....	193
5.2.3	Qualitätsparameter der Thrombozyten.....	194
5.2.3.1	Allgemeines	194
5.2.3.2	pH-Wert.....	195
5.2.3.3	Reaktion der Thrombozyten auf hypotonen Stress.....	195
5.2.3.4	Morphologie der Thrombozyten.....	197
5.2.4	Aktivierung der Thrombozyten – β -Thromboglobulin	197
5.2.5	Aktivierung der Thrombozyten – lösliches P-Selektin.....	198
5.2.6	Funktionalität der Thrombozyten – Aggregometrie	199

6 Zusammenfassung.....	201
Literaturverzeichnis.....	206
Abbildungsverzeichnis.....	236
Tabellenverzeichnis.....	238
Abkürzungsverzeichnis.....	239
Danksagung.....	242

1 Einleitung

1.1 Die Etablierung der Autotransfusion

Den Grundstein der modernen Transfusionsmedizin legte Karl Landsteiner, der durch die Vermischung von Erythrozyten und Serum 22 verschiedener Probanden die Blutgruppen A, B und 0 entdeckte – auch wenn er sie in seiner 1901 veröffentlichten Arbeit [1] mit den Buchstaben „A“, „B“ und „C“ versah [2, 3]. Obgleich Tierexperimente durch Rous und Turner um das Jahr 1916 gezeigt hatten, dass Blut nach der Zugabe einer wässrigen Lösung aus Natriumcitrat und einem Zucker wie Dextrose oder Saccharose unbeschadet für zwei bis vier Wochen gelagert werden kann [4, 5], setzte der weltweit erste Blutspendedienst noch auf frisches, direkt gespendetes Blut [2]. Besagter Blutspendedienst wurde 1921 von einem Angestellten des Britischen Roten Kreuzes in London ins Leben gerufen und umfasste eine Liste freiwilliger Spender, die es bei akutem Fremdblutbedarf kurzfristig zu kontaktieren galt [2, 6]. Die erste Blutbank, welche gekühlte Flaschen mit Spenderblut vorrätig hielt, entstand um das Jahr 1937 am Cook County Hospital in Chicago [2, 6].

Bereits der 1921 in London gegründete Blutspendedienst achtete darauf, nur augenscheinlich gesunde Spender in seine Kartei aufzunehmen [2], um die Empfänger nicht der Gefahr einer transfusionsassoziierten Infektion auszusetzen. In den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts erkannte man durch den Nachweis der Posttransfusions-Hepatitis schließlich die Gefahr der Übertragung viraler Krankheiten mittels Blutspende [7]. Doch trotz Einführung des HBsAg-Tests (hepatitis-B-surface-Antigen) zeigten sich Ende der 70er Jahre noch bei etwa 10 % der Blutempfänger Zeichen einer Leberentzündung [7]. Mit dem Auftreten der Krankheit AIDS in den 80er Jahren gelangte das infektiöse Potential von Blutprodukten schließlich auch in das öffentliche Bewusstsein. Nachdem in den Jahren 1982/83 die ersten Transfusionsassoziierten Fälle von HIV-Infektionen beobachtet worden waren [8, 9], empfahl der United States Public Health Service 1983, dass Personen

mit erhöhtem Risiko für HIV-Infektionen kein Blut mehr spenden sollten [10]. Zu diesem Zeitpunkt lag die HIV-Prävalenz unter den Spendern schätzungsweise bei 1 % [11]. Die härteren Kriterien bei der Wahl der Spender führten bereits zu einer massiven Abnahme dieser Prävalenz [11, 12]. Als zusätzlich im März 1985 ein Test auf HIV-Antikörper eingeführt wurde, sank die Zahl an HIV-positiven Spenden auf etwa 0,0025 % [12]. Gleichermaßen sank die Zahl an gemeldeten transfusionsassoziierten HIV-Infektionen in den USA während der folgenden fünf Jahre auf etwa 5 Fälle pro Jahr ab – ein enormer Fortschritt, verglichen mit den 714 gemeldeten Fällen im Jahr 1984 [13].

Neben den oben genannten Bemühungen, das infektiöse Potential von Fremdblutspenden zu senken, kamen auch Bestrebungen auf, den Einsatz von Fremdblut nach Möglichkeit zu reduzieren. So legten beispielsweise einige Bundesstaaten der USA fest, dass Patienten bei hinreichendem Verdacht auf den Bedarf einer Bluttransfusion über alle Alternativen zur Verwendung allogenen Blutes informiert werden sollten [14]. Regen Zuspruch fand in den folgenden Jahren die Eigenblutspende: Lag der Anteil autologer Spenden an der Gesamtzahl aller in den USA verfügbaren Spenden 1982 noch bei 0,22 % [15], so erreichte dieser Anteil innerhalb von 10 Jahren mit 8,10 % [16] einen vorläufigen Höhepunkt [17].

In Deutschland sorgten neben einer Vielzahl von Gesetzen und Verordnungen, die das Transfusionswesen betreffen, auch technologische Fortschritte im Bereich der Erregerdiagnostik – wie beispielsweise die Möglichkeit des Virusgenom-Nachweises mittels Nukleinsäureamplifikation – dafür, dass das Risiko einer viralen Infektion durch Blutprodukte inzwischen einen historischen Tiefstand erreicht hat [18, 19]. So beträgt gegenwärtig etwa das Risiko einer HIV-Infektion unter 1 : 4.600.000. Tabelle 1-1 fasst die Übertragungsrisiken der wichtigsten viralen Erreger in Abhängigkeit des verwendeten Testverfahrens zusammen [7].

Tabelle 1-1. Gegenwärtiges Risiko einer Virusübertragung durch Bluttransfusion [7]

Erreger	Testumfang	Restrisiko
Hepatitis-B-Virus (HBV)	HBs-Antigen	1 : 260.000
	mit HBV-NAT	1 : 320.000
Hepatitis-C-Virus (HCV)	anti-HCV, ohne HCV-NAT	< 1 : 330.000
	mit HCV-NAT	< 1 : 4.200.000
HIV-1/2	anti HIV, ohne HIV-NAT	< 1 : 1.100.000
	mit HIV-NAT	< 1 : 4.600.000

„Durch den molekulargenetischen Virusgenom-Nachweis mittels Nukleinsäureamplifikationstechnik (NAT) kann die serologische Fensterphase zwischen der Infektion und dem Nachweis von Virusantigenen bzw. Antikörper bei Blutspendern deutlich verkürzt werden und das Restrisiko einer Virusübertragung durch Bluttransfusionen reduziert werden. Derzeit sind HIV-I-NAT, HCV-NAT, HBsAg verpflichtend vorgeschriebene Testverfahren.“ [7]

Was die ernsthaften Komplikationen der Hämotherapie anbelangt, so spielen Infektionen tatsächlich nur noch eine untergeordnete Rolle: Aus den Daten eines nationalen Meldesystems in England [20] geht hervor, dass nach wie vor Anwendungsfehler mit der höchsten Komplikationsrate verbunden sind. So entstehen etwa zwei Drittel der potentiell lebensbedrohlichen Situationen durch die Infusion blutgruppeninkompatibler Präparate, während transfusionsbedingte Infektionen nur ca. 2 Prozent der Fälle ausmachen [20].

Blutgruppenunverträglichkeiten zwischen Spendern und Empfängern führen typischerweise akut zu hämolytischen Transfusionsreaktionen, während Antikörperbildungen gegen transfundierte Blutbestandteile erst nach Tagen bis Wochen zu hämolytischen Transfusionsreaktionen führen [21]. Nichthämolytische Transfusionsreaktionen resultieren wohl meist aus einer Interaktion von Antikörpern des Empfängers mit Leukozyten des Spenders [21]. Auch allergische Transfusionsreaktionen – bedingt durch Antikörper gegen Plasmaproteine des Spenders – laufen meist ohne Hämolyse ab [22].

Eine wichtige immunologisch vermittelte Transfusionsreaktion stellt die transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI = transfusion-related acute lung injury) dar, welche in den USA mit zu den führenden transfusionsassoziierten Todesursachen zählt [23]. Tabelle 1-2 gibt einen Überblick über die Häufigkeit möglicher transfusionsassoziierter Komplikationen.

Tabelle 1-2. Häufigkeit unerwünschter Wirkungen von Transfusionen [7, 24]

Unerwünschte Wirkung	Risiko je Einheit
1. Immunologisch verursachte Transfusionsreaktionen	
• Akute hämolytische Transfusionsreaktion	
○ ohne tödlichen Ausgang	1 : 6.000 – 1 : 80.000
○ mit tödlichem Ausgang	1 : 250.000 – 1 : 600.000
• Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion	1 : 1.000 – 1 : 4.000
• Febrile nicht hämolytische Transfusionsreaktion	
○ Erythrozytenkonzentrat	<1 : 200
○ Thrombozytenkonzentrat	<1 : 5
• Allergische Transfusionsreaktion	
○ mit mildem Verlauf	1 : 33 – 1 : 333
○ mit schwerem Verlauf	1 : 20.000 – 1 : 50.000
• Posttransfusionelle Purpura	1 : 600.000
• Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz	1 : 5.000 – 1 : 7.200
• Transfusionsassoziierte Graft-versus-Host-Reaktion	1 : 400.000 – 1 : 1.200.000
2. Transfusionsassoziierte Infektionen	
• Transfusionsassoziierte Virusinfektionen	
○ HIV	<1 : 10 ⁶
○ HBV	1 : 10 ⁵ – 1 : 10 ⁶
○ HCV	<1 : 10 ⁶
• Transfusionsassoziierte Parasitosen	<1 : 10 ⁶
• Neue Variante der Creutzfeld-Jakob-Krankheit	Bisher kein Fall bekannt
• Bakterielle Kontamination	
○ Erythrozytenkonzentrat	1 : 500.000 – 1 : 4.700.000
○ Thrombozytenkonzentrat	1 : 900 – 1 : 100.000
3. Nichtimmunologisch verursachte Transfusionsreaktionen	
• Hypervolämie	
• Hämolytische Transfusionsreaktion	
• Zitratreaktion	
• Transfusionshämosiderose	

Modifiziert nach [7], basierend auf Daten aus [24].

Angesichts dieser vielfältigen Risiken muss vor jeder allogenen Bluttransfusion die Indikationsstellung sorgfältig überprüft werden. Es scheint also ratsam, primär zu versuchen, den Blutverlust – und dabei vor allem den Verlust an Erythrozyten als Sauerstoffträger – möglichst gering zu halten. Ist eine Bluttransfusion dennoch notwendig, so sollte nach Möglichkeit das Blut des Patienten selbst verwendet werden – getreu dem Motto „the patient’s blood ist the safest blood“ [25]. Neben einer blutarmen Operationstechnik existiert eine Reihe verschiedener Fremdblut sparender Maßnahmen, auf die im Folgenden kurz eingegangen werden soll.

Eine sehr naheliegende und nachweislich den Bedarf an Fremdblut reduzierende [26] Maßnahme ist die Eigenblutspende. Vorteile dieses Verfahrens liegen im Ausschluss der Übertragung pathogener Viren sowie in der Vermeidung von Plasmaunverträglichkeiten, Bildung irregulärer, blutgruppenspezifischer Alloantikörper und transfusionsassoziiierter Graft-versus-Host-Reaktion. Gemäß den aktuellen Leitlinien der Bundesärztekammer ist daher jeder Patient rechtzeitig auf die Möglichkeit der autologen Hämotherapie hinzuweisen, wenn bei ihm eine planbare operative Maßnahme ansteht, die mit einer mindestens 10-prozentigen Transfusionswahrscheinlichkeit einhergeht [22]. Es existieren allerdings auch einige Kritikpunkte an dieser Methode. Da der Organismus des Patienten die Möglichkeit erhalten soll, den „Verlust“ des konservierten Blutes durch Neubildung von Erythrozyten zu kompensieren, ist diese Methode nur bei lange im Voraus geplanten Operationen in Betracht zu ziehen. Durch die daraus resultierende lange Lagerungsdauer des gewonnenen Erythrozytenkonzentrates sinkt dessen Qualität, was das Risiko einer Immunmodulation mit der möglichen Folge von postoperativen Infektionen und Tumorzidiven möglicherweise erhöht [27]. Obgleich an die Patienten ähnlich hohe Anforderungen wie an „gewöhnliche“ Blutspender gestellt werden sollten, scheint die Abnahme von Blutspenden für den Eigenbedarf deutlich häufiger mit schwerwiegenden Komplikationen einherzugehen als die Gewinnung von Spenden für den Fremdbedarf [28]. Darüber hinaus findet ein Großteil der autologen Spenden niemals Verwendung: Von allen abgenommenen autologen Blutspenden verwarf man in den USA im Jahr 2001 insgesamt 42,0 %, während die allgemeine Verwurfrate an Blutspenden lediglich 7,8 % betrug [16].

Ebenfalls nur bei geplanten Operationen kommt die präoperative Gabe von rekombinantem Erythropoetin zum Einsatz. Auch hier ist eine effektive Reduktion von Fremdbluttransfusionen möglich [21, 29-31]. Als schwerwiegende Nebenwirkungen von Substanzen, welche die Erythropoese stimulieren, werden im Rahmen von Langzeittherapien cardiale Komplikationen [32] sowie eine Unterstützung des Tumorwachstums [33, 34] genannt. Da sich die präoperative Gabe von rekombinantem Erythropoetin jedoch nur über zwei bis drei Wochen erstreckt, sind derartige Nebenwirkungen kaum zu erwarten [35, 36]. Demgegenüber mehren sich allerdings Hinweise auf antikörpervermittelte allergische Reaktionen [37].

Unmittelbar präoperativ durchgeführt werden kann die akute normovolämische Hämodilution (ANH). Dabei wird dem Patienten Vollblut entnommen und der Volumenverlust durch die Gabe kristalloider oder kolloidaler Lösungen kompensiert [21, 38, 39]. Das so gewonnene Blut kann intra- oder postoperativ retransfundiert werden [21]. Dieses Verfahren kommt allerdings nur für Patienten mit hochnormalen präoperativen Hämoglobin-/Hämatokritwerten in Frage, bei denen zusätzlich von einem sehr hohen intraoperativen Blutverlust (mindestens 50 Prozent des Blutvolumens) auszugehen ist [7]. Ob diese Methode tatsächlich den Fremdblutbedarf senkt, ist jedoch ungewiss [7, 40].

Auf pharmakologischer Seite werden Antifibrinolytika wie Aprotinin, ϵ -Aminocapronsäure und Tranexamsäure eingesetzt, um den Fremdblutverbrauch zu reduzieren [21]. Auch im Rahmen der Anästhesieführung kann der Blutverlust und damit der Fremdblutbedarf effektiv reduziert werden [41, 42]. Hier seien vor allem die Aufrechterhaltung der Normothermie [41, 42] sowie eine adäquate Volumensubstitution hervorgehoben [21].

Bei der Autotransfusion von Wundblut wird intra- oder postoperativ anfallendes Blut in einem Reservoir gesammelt, um es dem Patienten anschließend zu reinfundieren. Dabei unterscheidet man die direkte Wundbluttransfusion, bei der eine Reinigung des Blutes lediglich durch einen Filter stattfindet, von der maschinellen Autotransfusion (MAT), bei der das gefilterte Wundblut zusätzlich mittels eines Zentrifugensystems gereinigt und konzentriert wird, bevor man es dem Patienten wieder zuführt [21].

1.2 Vorteile der maschinellen Autotransfusion

Die Idee hinter der direkten Wundblutrettransfusion ist denkbar einfach: Blut, welches das Gefäßsystem während oder nach einer Operation verlässt und sich im Wundgebiet akkumuliert, wird gesammelt und dem Gefäßsystem mittels Infusion wieder zugeführt. Umgesetzt wird dies mittels eines geschlossenen Wunddrainagesystems [43]. Die intraoperativ angelegte Drainage fördert das Wundblut mittels Sog oder allein durch die Schwerkraft bedingt in ein Sammelreservoir, wobei meist ein Filter passiert werden muss, der größere Zelltrümmer zurückhält [43]. Nach Erreichen einer definierten Sammelmenge erfolgt die Retransfusion, bei der wiederum ein Filter (mindestens 40 µm) zwischengeschaltet ist [43]. Als Haupteinsatzgebiet der direkten Autotransfusion gilt die postoperative Nutzung in Herzchirurgie [39, 44-46] und Orthopädie [44, 45, 47, 48].

Man darf jedoch nicht außer Acht lassen, dass sich die blutige Flüssigkeit aus dem Wundgebiet teilweise ganz erheblich vom „normalen“ zirkulierenden Blut unterscheidet. Oftmals bereits mit bloßem Auge erkennbar ist der wesentlich geringere Hämatokrit, der im Schnitt mit 20 bis 34 % angegeben wird [43] und in starkem Maße von der Art der Operation und dem Einsatz von Wundspülung abhängt. Aber auch hämolytische Prozesse vermindern die Erythrozytenkonzentration und erhöhen den Anteil an Zelltrümmern, Zytolyseprodukten und freiem Hämoglobin, der als Indikator für die Zerstörung von Erythrozyten gilt. Je nach Studie werden für das freie Hämoglobin Konzentrationen von 240 bis 2.000 mg/dl angegeben – als normal gelten Werte unter 40 mg/dl [43]. In leukozyten-depletiertem Erythrozytenkonzentrat darf gemäß den Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten der deutschen Ärztekammer von 2003 [24] die Hämolyserate einen prozentualen Anteil von 0,8 % der Erythrozytenmasse nicht überschreiten, was in etwa einer Konzentration an freiem Hämoglobin von 300 mg/dl entspricht.

Im drainierten Blut finden sich auch erhöhte Konzentrationen zahlreicher aktivierter koagulatorischer und fibrinolytischer Gerinnungsfaktoren [43]. Dazu zählen D-Dimere, Prothrombinfragmente, Thrombin-Antithrombin-Komplexe, lösliches Fibrin und große Mengen an Fibrinspaltprodukten [43, 49, 50]. Besonders die Fibrinspaltprodukte gelten

als potentiell gefährlich, da sie auf die Fibrinpolymerisation und die Funktion der verbliebenen Thrombozyten Einfluss nehmen [43].

Zusätzlich sind im gesammelten Blut sowohl humorale als auch zelluläre Komponenten des Immunsystems aktiviert [43]. So zeigt sich die Aktivierung des Komplementsystems an erhöhten Konzentrationen von C3a, C5a und des terminalen Komplementkomplexes bei gleichzeitig verminderten Konzentrationen von C3 und C5 [43, 51-53]. Dass die Leukozyten im gewonnenen Wundblut in weitaus größerem Umfang aktiviert sind als im zirkulierenden Blut, ist beispielsweise an vermehrten Leukozytenadhäsionsrezeptoren und der erhöhten Menge an PMNL-Elastase erkennbar [43, 54]. Auch an der Menge und Art der ausgeschütteten Zytokine lässt sich die Leukozytenaktivierung erkennen [43]. Während die Konzentrationen von TNF- α , IL-1 α und IL-1 β im Wundblut zumeist nicht wesentlich erhöht sind, ist für IL-8 und IL-6 ein Anstieg zu verzeichnen, der für IL-6 besonders deutlich ausfällt [51, 55]. Gerade IL-6 soll für das Auftreten nichthämolytischer febriler Transfusionsreaktionen verantwortlich sein [43]. Tabelle 1-3 fasst die angesprochenen Parameter von ungewaschenem Drainageblut quantitativ zusammen.

Nach erfolgter Retransfusion können all diese Mediatoren und Zellen ihrer pathophysiologischen Funktion nicht nur lokal im Wundgebiet, sondern systemisch nachkommen [56]. Da die meisten dieser Mediatoren Teil von kaskadischen Systemen sind, neigen sie dazu, ihrerseits weitere Mediatoren zu aktivieren [49]. Einige dieser Mediatoren gehören zu den Hauptursachen für Blutgerinnungsstörungen, Verbrauchskoagulopathie (DIC), akutes Lungenversagen (ARDS), systemic inflammatory response syndrome (SIRS) und Multiorganversagen (MODS) [57]. Problematischerweise kann weder abgeschätzt werden, in welchem Umfang das Wundblut im einzelnen Falle mit diesen Faktoren kontaminiert ist, noch wie es um die individuelle Kompensationsfähigkeit des Patienten bestellt ist [57]. Zu den bekannten Komplikationen, die bei der Retransfusion von ungewaschenem Wundblut auftreten können, zählen sowohl eine Aktivierung der Gerinnungskaskade [49] als auch eine verstärkte Blutungsneigung [58, 59]. Zudem existieren Berichte über negative Beeinträchtigungen des renalen, cardialen und pulmonalen Systems [60-63]. Auch letale Komplikationen sind dokumentiert [61, 64].

Tabelle 1-3. Charakteristika von postoperativ gesammeltem Drainageblut [43]

Parameter	Gemessene Konzentration			Einheit	Normalwert		Veränderung
Hämatokrit	20	–	34	%	37	– 47	–
Thrombozyten	0	–	87	$\times 10^3/\mu\text{l}$	200	– 450	–
Leukozyten	3	–	11	$\times 10^9/\text{l}$	3,5	– 9	–/0
pH	7,11	–	7,22		7,36	– 7,44	0
Freies Hämoglobin	236	–	20.300	mg/dl		< 40	++/++++
β -Thromboglobulin			> 350	IE/ml	10	– 40	++
Faktor V			≤ 10	%	80	– 100	–
Antithrombin III	22	–	48	%	80	– 100	–
TAT			> 200	$\mu\text{g/l}$	1,0	– 4,1	++++
Fibrinogen			< 0,4	g/l	1,7	– 4,7	–
Fibrinospaltprodukte	6	–	977	$\mu\text{g/ml}$		< 5	0/+++
Plasminogen	54	–	55	%	80	– 100	–
C1	71	–	83	%	80	– 125	–
C3	0,45	–	2,7	g/l	0,9	– 1,8	0/+
C3a	4,2	–	9,4	ng/ml	156	– 230	–
C5a			32	ng/ml		< 10	+
TCC	10	–	29	AU/ml	2,2	– 4,6	++
TNF- α	0	–	31	pg/ml	0	– 12	0/+
IL-6	12	–	65.867	pg/ml	0	– 5	+/++++
IL-8	62,4	–	3.737	pg/ml	0	– 50	+/++++

„0“ = keine Veränderung; „–“ = Verminderung; „+“ = Erhöhung. [43]

„Dargestellt sind in der Literatur angegebene Konzentrationen im Vergleich zu den jeweiligen Normalwerten. Hiernach sind HKT und Thrombozyten im Drainageblut vermindert, die Erythrozytenqualität normal, Gerinnung und Fibrinolyse z. T. deutlich aktiviert, das Komplementsystem partiell aktiviert und die proinflammatorische Immunantwort z. T. erheblich verstärkt.“ [43]

Modifiziert nach [43], basierend auf Daten aus [50-53, 55, 65-69].

Bei der Betrachtung klinischer Studien, welche die Sicherheit und Effizienz der direkten Wundblutrettransfusion bestätigen, sollte man immer die geringen Teilnehmerzahlen dieser Studien bedenken, welche eine fundierte Risikoabschätzung nur schwerlich zulassen [44, 48, 70-72].

Was die Effizienz der direkten Autotransfusion betrifft, so kamen Huët et al. in einer Metaanalyse aus dem Jahr 1999 [44] zu dem Schluss, dass die Bluteinsparung durch postoperative Retransfusion von ungewaschenem Wundblut im Bereich der Herzchirurgie allenfalls als gering bezeichnet werden kann. Auch Studien aus der Orthopädie bestätigen eine geringe Effizienz der postoperativen direkten Autotransfusion und weisen oftmals keinerlei Bluteinsparung nach [73-76]. Dass hingegen die Retransfusion von maschinell aufbereitetem Wundblut eine effektive Möglichkeit darstellt, den Bedarf an Fremdblut zu verringern, ergaben zwischen den Jahren 1999 und 2010 mehrere umfangreiche Metaanalysen [44, 45, 77, 78].

Mit der 2005 veröffentlichten Gesamtnovelle der Richtlinien zur Hämotherapie trug die Bundesärztekammer einigen dieser Kritikpunkte Rechnung: Die „Transfusion von intra- oder postoperativ gesammeltem Wund- oder Drainageblut ohne vorherige Aufbereitung“ wird in diesen Richtlinien „aufgrund der Gefahr einer Gerinnungsaktivierung, Zytokin- und evtl. Endotoxineinschwemmung sowie Einschwemmung anderer biologisch aktiver Substanzen nicht empfohlen“ [79].

Das gesammelte Wundblut von den oben genannten schädlichen Komponenten zu befreien ist das Ziel der maschinellen Autotransfusion. Die momentan erhältlichen Geräte (Medtronic autoLog®, Sorin BRAT 2®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver®, Sorin Electa, Haemonetics OrthoPAT®, Sorin Xtra® etc.) basieren dabei alle auf Zentrifugensystemen: In diesen findet eine Auftrennung des Wundblutes in die Fraktionen „Plasma“ und „korpuskuläre Bestandteile“ statt, wobei erstere verworfen und letztere von einer durchströmenden Waschlösung gereinigt wird [80-82]. Physikalische Grundlage der maschinellen Autotransfusion ist die Zellseparation durch Zentrifugation: Da Erythrozyten im Blut die Fraktion mit der höchsten Dichte darstellen, können sie in der Zentrifuge angereichert und theoretisch von allen anderen Blutbestandteilen getrennt werden.

Die technische Umsetzung dieses Prinzips erfolgt dabei mittels zweier verschiedener Verfahren. Beiden ist gemein, dass das Wundblut zunächst in einem Reservoir gesammelt, gefiltert und entschäumt wird. Das weitere Vorgehen ist jedoch unterschiedlich.

Beim diskontinuierlichen Verfahren (beispielsweise Cell Saver® oder Electa) kommen Zentrifugenglocken zum Einsatz, die nur mit einer Mindestmenge an roten Blutkörperchen ihr optimales Waschergebnis erzielen können [81, 83]. Bevor hier der einige Minuten dauernde Aufbereitungsprozess gestartet werden kann, muss also zunächst ein ausreichend großes Volumen an Wundblut gesammelt werden. Ist der Waschvorgang für eine Zentrifugenglocke abgeschlossen, so wird das gewaschene Erythrozytenkonzentrat in einen Retransfusionsbeutel gepumpt. Danach wird die Glocke wieder neu befüllt.

Das kontinuierliche Verfahren (Fresenius C.A.T.S) zeichnet sich dadurch aus, dass die verschiedenen Phasen der Aufbereitung gleichzeitig ablaufen, woraus ein kontinuierlicher Fluss des Blutes vom Sammelreservoir über die Waschkammer bis in den Retransfusionsbeutel resultiert [84, 85]. Da die Waschkammer dieses Gerätes lediglich ein Fassungsvermögen von etwa 30 ml aufweist, bietet es sich auch für die Verarbeitung kleinerer Blutvolumina an [84].

Durch die prinzipielle Abscheidung der Plasmafraktion erreichen die MAT-Geräte für gewöhnlich eine Reduktion aller anfallender löslicher Blutkomponenten um 95 bis 99 Prozent [57] – darunter Heparin, Prokoagulanzen, Enzyme und Zytokine [57, 80, 86, 87]. Die Elimination dieser Komponenten gelingt zwar nie vollständig, aber zumindest in einem ausreichenden Maße, um unerwünschte Nebenwirkungen zu verhindern [57, 88].

Größere Partikel und Zellaggregate werden zum Teil bereits durch den Mikrofilter des Reservoirs entfernt [57]. Während der Zentrifugation hängt die Elimination der unerwünschten Bestandteile gemäß der Sedimentationsgleichung von deren Dichte und Größe ab. Das Ausmaß der Leukozytenelimination schwankt dabei erheblich [80, 89]. Da die Leukozyten im Wundgebiet und an den künstlichen Oberflächen des MAT-Gerätes offenbar nur geringfügig aktiviert werden [90], sollte ihre Retransfusion keine negativen Auswirkungen auf den Patienten haben [91].

Auch die Auswaschraten der Thrombozyten zeigen sich sehr variabel [80]. Deren Bestimmung wird oftmals dadurch erschwert, dass die standardmäßig eingesetzten Blutbildautomaten die Überreste lysierter Zellen mitunter als Thrombozyten fehlinterpretieren

[92]. Allerdings sind die meisten Thrombozyten ohnehin nicht mehr funktionsfähig und führen nicht zu unerwünschten Nebenwirkungen [57, 93].

Im Retransfusionsbeutel findet man nach erfolgter Aufbereitung ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat vor, dessen Hämatokrit sich durchschnittlich zwischen 50 und 63 Prozent bewegt [67, 80, 85, 87, 89, 94-100] – vereinzelt werden in Studien auch Werte von über 70 Prozent genannt [89, 101]. Die frischen Erythrozyten dieses Konzentrates sind qualitativ höherwertig einzuschätzen als solche aus länger gelagerten Blutkonserven: So entsprechen Parameter wie Größe und Hämoglobingehalt [99], 2,3-Diphosphoglyzerat-Gehalt [102], osmotische Resistenz [103] und auch die Überlebensrate [104] im Wesentlichen denen zirkulierender Erythrozyten. Darüber hinaus entfällt bei diesem autogenen Erythrozytenkonzentrat die Gefahr immunologisch verursachter Transfusionsreaktionen. Da aufgrund der fehlenden Gefahr von Lagerungsschäden oder immunologischer Reaktionen keine Notwendigkeit besteht, die Transfusionsindikation so streng zu stellen, wie es beim Einsatz von allogenen oder gelagerten autologen Blutkonserven der Fall wäre, kann eine Blutungsanämie mittels maschineller Autotransfusion auch tatsächlich behoben werden [105].

Obgleich die maschinelle Autotransfusion mit nicht unerheblichen Kosten – bedingt sowohl durch die Anschaffung des Gerätes als auch durch die benötigten Einmalmaterialien – verbunden ist, erweist sich dieses Verfahren gegenüber der Verwendung von allogenen Blutspenden auf längere Sicht zudem als kostengünstigere Alternative [106].

1.3 Plasmapherese mit MAT-Geräten

Das Prinzip, Wundblut per Zentrifugation schichtweise in seine Bestandteile zu zerlegen, lässt sich nicht nur zur Abscheidung von schädlichen und unerwünschten Substanzen nützen. Ebenso ermöglicht es Geräten wie Electa, Xtra® (beide Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) Cell Saver® (Haemonetics Corporation, Braintree, MA, USA) oder C.A.T.S (Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland), Vollblut in die Bestandteile Plasma, Erythrozyten und buffy coat aufzuteilen. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf dem buffy coat, in dem sich der Großteil der Leukozyten und Thrombozyten ansammelt. Dieses als Plasmapherese oder Apherese bezeichnete Verfahren ermöglicht es beispielsweise, die Thrombozyten eines cardiochirurgischen Patienten vor der Umstellung auf extrakorporale Zirkulation zu sammeln, um sie ihm nach deren Beendigung zu reinfundieren. Hintergrund dieser temporären Entfernung von Thrombozyten aus der Blutzirkulation ist der Umstand, dass Thrombozyten beim Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine offenbar Schaden nehmen: So kommt es zu einer verstärkten Freisetzung der Thrombozytengranula [107, 108] sowie einer Abnahme der Haftfähigkeit [109] und der Ansprechbarkeit der Thrombozyten [110]. Als mögliche Ursachen für diese generelle Thrombozytenaktivierung gelten der im Rahmen der extrakorporalen Zirkulation auftretende Scherstress, der unphysiologische Vorgang der Oxygenierung, die großen künstlichen Oberflächen sowie die oftmals vorliegende Hypothermie [111]. Umgeht nun ein Teil der Thrombozyten mittels vorher durchgeführter Apherese die Belastung durch die Herz-Lungen-Maschine, so verringert sich laut einer Reihe von Studien [112-119] sowohl der perioperative Blutverlust als auch die Zahl an benötigten homologen Blutprodukten. Andere Studien wiederum konnten einen derartigen Effekt nicht nachweisen [120, 121].

Eine weitere Verwendungsmöglichkeit der durch Apherese gewonnenen Thrombozyten liegt in der Anfertigung eines thrombozytenreichen Gels (APG = autologous platelet gel), dessen therapeutisches Potential auf den darin enthaltenen thrombozytären Wachstumsfaktoren basiert [122]. Die Einsatzmöglichkeiten solchen Plättchengels sind vielfältig. Neben lokal hämostatischer Wirkung [123] verbessert der hohe Gehalt an

Wachstumsfaktoren des Gels essentielle Schritte der Wundheilung [124]. Besagte Wachstumsfaktoren regen unter anderem die Kollagenproduktion [125, 126] sowie die Regeneration von Knochengewebe an [127, 128]. Mögliche Einsatzgebiete von Plättchengel finden sich daher in erster Linie bei der Behandlung chronischer Wunden [129-131], im Rahmen von Knochentransplantationen in der MKG-Chirurgie und der Orthopädie [127, 132, 133] sowie auch in der plastischen Chirurgie [134].

Da Wachstumsfaktoren wie PDGF (platelet-derived growth factor) in den α -Granula der Thrombozyten gespeichert und daher primär nicht wirksam sind, ist es für die Herstellung von autologem Plättchengel notwendig, die Thrombozyten zusätzlich zu aktivieren und damit eine Freisetzung der Wachstumsfaktoren zu initiieren [135]. Thrombin gilt dabei als der wirksamste Thrombozytenaktivator [135] – es bewirkt eine unmittelbare Freisetzung der Wachstumsfaktoren, welche sich proportional zur eingesetzten Menge an Thrombin verhält [136]. Mit Hilfe kommerziell erhältlicher Kits wie Thrombin Assessing Device™ (Thermogenesis, Rancho Cordova, CA, USA) oder activAT® (Cytomedix, Inc., Rockville, MD, USA) ist es möglich, patienteneigenes Thrombin zu gewinnen und damit allergische Reaktionen, wie sie beispielsweise bei der Verwendung von Rinder-Thrombin auftreten können [137, 138], zu vermeiden. Die genannten Kits verwenden dabei Ethanol und Calcium-Chlorid als Aktivator [135]. Dieser wird mit Blutplasma des Patienten vermischt, welches ohnehin bei der Gewinnung der Thrombozyten anfällt [135].

Auf dem Markt gibt es einige Geräte, die speziell zur Thrombozytengewinnung für autologes Plättchengel entwickelt wurden. Zu diesen zählen ANGEL® (Cytomedix, Inc., Rockville, MD, USA), CASCADE® (MTF Sports Medicine, Edison, NJ, USA), GPS™ III (Biomet Biologics, LLC, Warsaw, IN, USA), Magellan® (Arteriocyte Medical Systems, Inc., Cleveland, OH, USA) und Secquire® (PPAI Medical, Fort Myers, FL, USA). Die genannten Geräte nutzen zur Abscheidung der Thrombozyten zwar allesamt die Zentrifugalkraft, unterscheiden sich jedoch teils stark im Design der eingesetzten Zentrifugengefäße.

Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit besteht in der Untersuchung der Qualität des per Apherese erzeugten Thrombozytenkonzentrats des MAT-Geräts „Electa Concept“ und dessen Nachfolgers „Xtra“ (beide Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien).

1.4 Qualitätsmanagement der maschinellen Autotransfusion

In Deutschland unterliegt die Verwendung von Wund- und Drainageblut dem „Gesetz zur Regelung des Transfusionswesens“ und den „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“. Um dem Anwender die Umsetzung der bestehenden Bestimmungen zu erleichtern, veröffentlichte eine Expertengruppe 2002 „Vorschläge zum internen Qualitätsmanagement bei der Retransfusion von intra- oder postoperativ gewonnenem Wund-/Drainageblut“ [139]. Diese Publikation wurde ausdrücklich von den beiden gemeinsamen Kommissionen „Qualitätsmanagement und Qualitätssicherung“ und „Arbeitsausschuss Bluttransfusion“ der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) und dem Berufsverband Deutscher Anästhesisten (BDA) empfohlen [140].

Unter anderem wird in dieser Publikation die Wichtigkeit regelmäßiger Qualitätskontrollen im Rahmen der Sicherung der Prozessqualität hervorgehoben. Im täglichen Routinebetrieb ist es dabei ausreichend, Hämatokrit und Volumen des gewaschenen Erythrozytenkonzentrates als Parameter der Produktqualität zu bestimmen. Während das Volumen genau genug durch das MAT-Gerät angegeben wird, sollte die Bestimmung des Hämatokrits an einem Blutgasanalysegerät erfolgen. Liegt der ermittelte Hämatokrit unter dem Grenzwert von 50 %, so ist die Messung zu wiederholen. Bestätigt sich der niedrige Hämatokrit, so sollte eine Prozesskontrolle durchgeführt werden. [139]

Standardmäßig ist eine Prozesskontrolle jedes MAT-Gerätes mindestens einmal pro Quartal vorgesehen. Als Kontrollparameter fungieren dabei Erythrozytenausbeute und Plasmaelimination, welche mindestens 80 bzw. 90 % betragen sollten. Die Erythrozytenausbeute errechnet sich dabei über Volumen und Hämatokrit des gesammelten und des gewaschenen Blutes. Ähnlich erfolgt auch die Berechnung der Plasmaelimination – allerdings bilden hier Überstandsvolumina und Indikatoren wie Gesamteiweiß, Albumin, freies Hämoglobin oder Kalium die Berechnungsgrundlage. Eine Sterilitätskontrolle durch

Bakterienkultur hingegen wird nicht empfohlen. Durch derartige Maßnahmen werden zwar regelmäßig Haut- und Luftkeime nachgewiesen – da das maschinell aufbereitete Wundblut jedoch nicht gelagert wird, ist auch keine signifikante Reproduktion dieser Bakterien zu befürchten. Wie auch bei den täglichen Routinekontrollen hat ein Unterschreiten des Sollwertes die Wiederholung der Messung zur Folge. Bestätigt diese zweite Messung einen unzureichenden Qualitätsparameter, so ist eine Analyse der möglichen Ursachen und eine dementsprechende Veränderung des Prozesses nötig. [140]

Während im Rahmen des Qualitätsmanagements regelmäßige Kontrollen der Produktqualität und des Aufbereitungsprozesses generell empfohlen werden, ist die experimentelle Testung von neuen Geräten, Programmen und Einmalmaterialien Institutionen mit entsprechendem Schwerpunkt vorbehalten. Hierbei sollten zwingend – wie auch bei der Kontrolle der Prozessqualität gefordert – sowohl die Erythrozytenausbeute als auch die Plasmaeliminationsrate als Parameter zum Einsatz kommen. Dennoch findet sich in der Literatur häufig nur einer dieser beiden Parameter. [140]

In vielen Studien dient dabei die Elimination oder die Restkonzentration an freiem Hämoglobin als Qualitätsparameter, obgleich dies mit einigen Nachteilen behaftet ist. So ist die labortechnische Bestimmung des freien Hämoglobins zwar recht aufwendig und teuer, lässt aber nicht zwangsläufig auf die tatsächliche Eliminationsrate des untersuchten Gerätes rückschließen. Dieser Umstand ist darauf zurückzuführen, dass freies Hämoglobin durchaus auch durch Hämolyse freigesetzt werden kann, die erst im Rahmen des Waschvorganges oder nach diesem stattfindet. Die Eliminationsrate an freiem Hämoglobin ist daher als gemischter Parameter anzusehen, der nicht nur von der Auswaschraten der hohen Ausgangsmenge an freiem Hämoglobin abhängt, sondern auch von der während des Waschprozesses auftretenden Hämolyse. Als alternative Parameter zur Bestimmung der Plasmaelimination bieten sich Gesamteiweiß- oder Albuminkonzentration an, deren Auswaschraten nicht den eben genannten Einschränkungen unterliegen und welche darüber hinaus auch repräsentativ sind für klinisch relevante Parameter wie aktivierte Faktoren, Mediatoren, Zytokine und Enzyme. In Tabelle 1-4 werden die Parameter „Gesamteiweiß“ und „freies Hämoglobin“ nochmals vergleichend gegenübergestellt. [140]

Tabelle 1-4. Nachteile von freiem Hämoglobin als Qualitätsparameter der MAT [140]

	Freies Hämoglobin	Gesamteiweiß
Bestimmungsmethode	aufwändig teuer nicht Routine	einfach billig Routine Werte schnell verfügbar
Fehlermöglichkeiten	Hämolyse bei/nach Probenabnahme (z. B. Zentrifugation)	–
Gemischter Parameter	beeinflusst von Auswaschen und prozessbedingter Hämolyse	nur beeinflusst von Auswaschen
Ausgangswert	sehr variabel	gleich bleibend hoch (Plasma)
Indikator für gefährliche Inhaltsstoffe	mangelnde Korrelation	Proteinauswaschrates repräsentativ für fast alle gelösten Inhaltsstoffe

Zudem ist bei der Durchführung derartiger Experimente von der Verwendung von Wundblut als „Testblut“ abzuraten, da dieses bei wiederholtem Testen nicht zu standardisieren ist: Vor allem die Parameter „Hämatokrit“ und „Hämolyse“ unterliegen oft großen Schwankungen. Verfallene Blutkonserven scheinen eine leichter zu standardisierende Alternative zu sein, die zudem leicht und günstig verfügbar ist. Bekanntermaßen verändern sich allerdings im Laufe der Kühlagerung spezifisches Gewicht und Zellvolumen der Erythrozyten. Darüber hinaus enthalten die heutzutage üblichen Erythrozytenkonzentrate in Stabilisatorlösung kaum Plasma, weshalb sich das Medium der Erythrozytenkonzentrate in den Parametern „spezifisches Gewicht“ und „Viskosität“ von Blutplasma unterscheidet. Betrachtet man nun die Stokessche Gleichung, mit der sich die Sedimentationsgeschwindigkeit der Erythrozyten errechnen lässt, so sind mit Ausnahme der Beschleunigung, welche in diesem Falle durch die Zentrifuge vorgegeben wird, sämtliche Berechnungsparameter verfälscht. Tabelle 1-5 gibt einen Überblick über diese Parameter. [140]

Tabelle 1-5. Nachteile abgelaufener Erythrozytenkonzentrate als Testblut [140]

Stokessche Gleichung: $v_s = \frac{d_p^2 \cdot (\rho_p - \rho_M)}{18 \cdot \eta_M} \cdot a$	abgelaufene Erythrozytenkonzentrate	frische Blutspenden, versetzt mit definierter Hämolyse
Dichte der Erythrozyten: ρ_p	verändert	normal
Durchmesser der Erythrozyten: d_p	verändert	normal
Dichte des Fluids: ρ_M	verringert	erhöht
dynamische Viskosität des Fluids: η_M	verringert	erhöht
Aggregate:	Zahl stark erhöht	kaum vorhanden
Hämolyse:	variabel	definiert

v_s : Sedimentationsgeschwindigkeit; d_p : Durchmesser des Partikels; ρ_M : Dichte des Mediums; ρ_p : Dichte des Partikels; η_M : dynamische Viskosität des Mediums; a : Zentrifugalbeschleunigung; Modifiziert nach [140].

Es ist daher naheliegend anzunehmen, dass sich somit auch das Verhalten dieser „abgelaufenen“ Erythrozyten während Separations- und Waschphase von dem frischer Erythrozyten im „echten“ Wundblut unterscheidet. Des Weiteren zeigen derart gealterte Erythrozyten eine verminderte Membranflexibilität, was sich wiederum auf das Sedimentationsverhalten auswirkt. Zudem kommt es in den Konserven vermehrt zu Aggregatbildung und zu Hämolyse unbekannten Ausmaßes. Allein der unbekannte Parameter „Hämolyse“ und damit verbunden die unbekannte Konzentration an freiem Hämoglobin zeigen die Probleme auf, Testblut auf Basis von verfallenen Erythrozytenkonzentraten zu standardisieren. Noch schwerer abzuschätzen als die Hämolyse, die ja über den Parameter „freies Hämoglobin“ bestimmt und dementsprechend eventuell korrigiert werden kann, ist jedoch die Auswirkung, welche die aufgrund der langen Lagerung entstandene Schädigung der Erythrozyten auf das Testergebnis hat. So zeigte sich in einer Studie von Bennett-Guerrero et al. [141], dass mit zunehmender Dauer der Lagerung der Erythrozyten deren Fähigkeit abnimmt, sich bei Scherstress zu deformieren, während Hansen et al. [142] nachweisen konnten, dass die durch Unterdruck induzierte Hämolyse in abgelaufenen Blutkonserven um ein vielfaches höher ist als in frischem Spenderblut. In ähnlicher

Weise dürften „abgelaufene“ Erythrozyten die mechanische Belastung durch die maschinelle Aufbereitung weniger gut kompensieren als frische. [140]

Auch der Umstand, dass für MAT-Geräte wie Cell Saver® (Haemonetics Corp., Braintree, MA, USA), Electa oder Xtra® (beide Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) Zentrifugenglocken unterschiedlicher Größe angeboten werden, findet in den veröffentlichten Studien kaum Beachtung – meist wird lediglich eine einzige Glockengröße untersucht [67, 80, 87, 94-98, 143], sodass über die Produktqualität der restlichen Glocken lediglich Vermutungen angestellt werden können. Dabei zeigte bereits eine Arbeit von Geiger et al. aus dem Jahr 1998 [89], dass sich beispielsweise die 225-ml-Glocke des Gerätes „Compact-A“ (Dideco S.p.A., Mirandola, Italien) hinsichtlich der Proteinelimination wesentlich stärker von der 55-ml-Glocke des gleichen Gerätes unterschied, als von den 225-ml-Glocken der Geräte „Sequestra“ (Medtronic, Inc., Minneapolis, MN, USA), „Cell Saver® 5“ und „HaemoLite® 3“ (beide Haemonetics).

Um den oben genannten Kritikpunkten Rechnung zu tragen, sollten bei der Testung eines MAT-Gerätes folgende Dinge berücksichtigt werden: Für die Erstellung des Testblutes empfiehlt es sich, frische Blutspenden mit definierten Mengen an isotonischer Kochsalzlösung sowie dem Überstand hämolysierter Erythrozytenkonzentrate zu vermischen, um eine Art „standardisiertes Wundblut“ zu erhalten. Als Parameter für die Bestimmung der Plasmaelimination bietet sich die leicht zu bestimmende Protein- oder Albuminelimination an, während gegenüber der Aussagekraft der Eliminationsraten von freiem Hämoglobin oder Kalium gewisse Zweifel angebracht sind. Um ein möglichst umfassendes Bild über das getestete Gerät zu erhalten, sollten sowohl sämtliche voreingestellten Programme als auch alle verfügbaren Glockengrößen getestet werden.

2 Ziele der Arbeit

Im Mittelpunkt der vorliegenden Studie stand das Autotransfusionsgerät „Xtra®“, welches der Hersteller Sorin Group Italia S.r.l. (Mirandola, Italien) als Nachfolgemodell der „Electa“ und des „BRAT 2“ entwickelte. In dieser Studie erfolgte eine Überprüfung der Qualität der Produkte „Erythrozytenkonzentrat“ und „Thrombozytenkonzentrat“, welche mittels dieses Gerätes gewonnen wurden, sowie eine Beurteilung der Effizienz dieser Gewinnung. Um eine möglichst hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, basierte diese experimentelle Studie auf standardisiertem Testblut aus frisch gewonnenen Vollblutspenden.

Erzeugung von Erythrozytenkonzentrat

Ziel der maschinellen Autotransfusion (MAT) ist es, dem Patienten den größtmöglichen Teil der intra- oder postoperativ „verloren gegangenen“ Erythrozyten wieder zuzuführen. Das zu diesem Zwecke erzeugte Erythrozytenkonzentrat sollte im Idealfall neben der Trägerlösung nur unbeschädigte Erythrozyten und keinerlei Plasmaproteine oder sonstige Fremdstoffe enthalten. Vorrangiges Ziel dieser Studie war es daher zu untersuchen, wie nahe die „Xtra®“ diesem Ideal unter verschiedenen Bedingungen kommt. Als Richtschnur dienten dabei die für das interne Qualitätsmanagement der MAT empfohlenen Mindestwerte: eine Erythrozytenausbeute von über 80 %, eine Plasmaelimination von über 90 % und ein Hämatokrit von über 50 % [139].

Für die Beurteilung der Effizienz und Qualität der Waschleistung eines MAT-Gerätes ist es allerdings nicht nur wichtig zu wissen, ob es den Anforderungen des Qualitätsmanagements [139] genügt, sondern vor allem auch, wie die einzelnen Qualitätsparameter im Vergleich mit anderen verfügbaren MAT-Geräten zu bewerten sind. Daher sollte im Rahmen dieser Arbeit auch ein Vergleich der Ergebnisse der Xtra® mit den publizierten Testresultaten anderer MAT-Geräte erfolgen.

Da die einzelnen Versuche zum einen möglichst gut zu reproduzierende Ergebnisse liefern, zum anderen aber auch den im klinischen Einsatz vorzufindenden Bedingungen nahe kommen sollten, setzte sich das verwendete Testblut aus frischen Blutspenden, dem Überstand hämolysierter Blutkonserven sowie isotonischer Kochsalzlösung zusammen. Dem Umstand, dass sich bei unterschiedlichen Arten von Operationen die Hämatokritwerte des anfallenden Wundbluts teilweise stark unterscheiden, wurde durch die Erstellung zweier Arten von Testblut entsprochen: Die beiden Testblutvarianten „Cardio“ und „Ortho“ waren jeweils dem Wundblut herzchirurgischer bzw. orthopädischer Operationen nachempfunden und wiesen Hämatokritwerte von 25 bzw. 10 % auf. Da diskontinuierlich arbeitende Autotransfusionssysteme wie die „Xtra®“ so lange Blut aus ihrem Reservoir in die Zentrifugenglocke pumpen, bis diese ein bestimmtes Volumen an Erythrozyten enthält, ist es logisch, dass dieser Pumpvorgang umso länger dauert, je niedriger im Reservoir die Ausgangskonzentration an Erythrozyten liegt. Dadurch verlängert sich bei einem niedrigeren Ausgangshämatokrit prinzipiell auch die Zeitspanne, während der die unerwünschten Plasmakomponenten abzentrifugiert werden. Inwieweit sich diese vom Hämatokrit des Testbluts abhängigen Veränderungen auf die unterschiedlichen beobachteten Parameter auswirken, war eine der Fragen, der in dieser Studie nachgegangen werden sollte.

Über die Wahl des Waschprogrammes kann der Anwender direkten Einfluss darauf nehmen, mit welcher Geschwindigkeit die verschiedenen Schritte des Aufbereitungsprozesses ablaufen und wie viel Waschlösung insgesamt verwendet wird (vergleiche hierzu auch Tabelle 3-1). Im Rahmen dieser Studie sollte daher unter anderem überprüft werden, ob und in welchem Umfang sich die verkürzte Verarbeitungszeit des Notfallprogramms negativ auf die Plasmaelimination und die Erythrozytenausbeute auswirkt. Ebenfalls von Interesse war die Frage, ob das Programm Popt mit seiner zweigeteilten Füll-Phase signifikante Vorteile gegenüber dem Standardprogramm bietet.

Die Zentrifugenglocke stellt das zentrale Element des Aufbereitungsprozesses dar, weshalb deren Design einen wichtigen Anteil an dessen Effizienz und der Qualität des gewonnenen Erythrozytenkonzentrates trägt. Bei Glocken verschiedener Größen unter-

scheidet sich dieses Design zwangsläufig, sodass auch Auswirkungen auf den Aufbereitungsprozess zu erwarten sind. So geben beispielsweise auch die Ergebnisse einer Studie von Geiger et al. aus dem Jahr 1998 [89] Hinweise darauf, dass die Wahl der Glockengröße stärkere Auswirkungen auf die Proteinelimination bedingen kann, als die Wahl des MAT-Gerätes. Um der Frage nachzugehen, welchen Einfluss die Größe der eingesetzten Glocke auf die Verarbeitungszeit und die Qualität des gewonnenen Erythrozytenkonzentrates ausübt, sowie um ein möglichst vollständiges Bild über den Funktionsumfang des Gerätes „Xtra®“ zu erhalten, kamen in der vorliegenden Studie alle vier verfügbaren Glockengrößen gleichermaßen zum Einsatz.

Als mögliche Parameter zur Bestimmung der Plasmaelimination werden in den etablierten Vorschlägen zum internen Qualitätsmanagement der maschinellen Autotransfusion [139] neben der Elimination an Gesamteiweiß auch die Auswaschraten an Albumin, freiem Hämoglobin und Heparin genannt – in einigen Studien [80, 89, 94, 96, 97, 99, 100] findet zu diesem Zwecke auch die Elimination an Kalium Verwendung. In der vorliegenden Arbeit fanden alle diese Parameter Einzug in das Studienprotokoll, um einerseits Vergleiche mit Studien zu ermöglichen, die bei der Testung von MAT-Geräten nur einen Teil dieser Eliminationsraten aufführen, und andererseits, um durch eine Gegenüberstellung dieser Parameter deren spezifische Vor- und Nachteile darzustellen.

Konzentrationsänderungen von Leukozyten und Thrombozyten im Rahmen der maschinellen Autotransfusion finden sich in vielen MAT-Studien [80, 89, 94, 96, 97, 100] unter den beobachteten Parametern, auch wenn kein allgemeiner Konsens darüber herrscht, wie diese Werte zu interpretieren sind. Zudem sind die für die Bestimmung der Konzentrationen an Leukozyten und Thrombozyten oft verwendeten Blutbildautomaten im Grunde nicht für die Analyse von Wundblut vorgesehen. In der vorliegenden Studie sollte daher auch überprüft werden, ob eine Bestimmung der Ausbeuten an Leukozyten und Thrombozyten im „Routinelabor“ reproduzierbare Ergebnisse liefert, und ob diese mit anderen Qualitätsparametern korrelieren.

Erzeugung von Thrombozytenkonzentrat

Wie bereits bei dem Vorgängermodell „Electa“ besteht auch bei der „Xtra®“ prinzipiell die Möglichkeit, Vollblut mittels spezieller Aphereseprogramme in die Bestandteile „Plasma“, „Erythrozyten“ und „buffy coat“ aufzutrennen. Zusammen mit dem „buffy coat“ wird dabei auch ein Großteil der Thrombozyten abgeschieden, welche in Form eines autologen Thrombozytenkonzentrates vielfältig einsetzbar sind.

Soll das Thrombozytenkonzentrat beispielsweise als „platelet-rich plasma“ (PRP) Verwendung finden, so sollte dessen Konzentration an Thrombozyten mindestens 1.000.000 / μ l betragen, da Studien, die eine positive Wirkung von PRP auf die Heilung von Knochen- und Weichteilgewebe beschreiben, vorrangig auf Präparaten mit dieser Konzentration basieren [144]. Der Frage nachzugehen, ob das mittels Aphereseprogramm der Xtra® gewonnene Thrombozytenkonzentrat durchgehend diesen Wert erreichen konnte, zählte daher zu den Zielen dieser Arbeit.

Aufgrund der Komplexität des Aufgabenspektrums der Thrombozyten gestaltet sich die Erfassung deren Funktionalität und Unversehrtheit relativ kompliziert, was sich auch an der Vielzahl an Parametern widerspiegelt, die zu diesem Zwecke in der Literatur aufgeführt werden. Zu den Prüfparametern, die in den „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ der Bundesärztekammer von 2010 [79] für die Qualitätskontrolle von Thrombozytenkonzentraten genannt werden, gehören jedoch lediglich zwei Parameter, die Rückschlüsse auf die Verfassung der Thrombozyten gestatten: der pH-Wert und die visuelle Kontrolle. Diese Parameter vermitteln allerdings nur ein recht grobes Bild vom Zustand der betrachteten Thrombozyten. Dieser ist jedoch entscheidend für die Effektivität sämtlicher Anwendungsformen des Thrombozytenkonzentrates. Daher sollte in der vorliegenden Studie anhand mehrerer unterschiedlicher Parameter ein differenzierter Vergleich der Überlebensfähigkeit, der Funktionalität und des Grads der Aktivierung der Thrombozyten vor und nach der Apherese erfolgen.

Da Thrombozyten bekanntermaßen mit zunehmender Lagerungsdauer einen wesentlichen Teil ihrer Funktionalität einbüßen [145], wurden in der vorliegenden Studie die

Qualitätsparameter der Thrombozyten nicht nur direkt nach deren Gewinnung, sondern auch nach einer sechsständigen Lagerung der Proben erfasst. Dadurch sollte es ermöglicht werden, zum einen das Ausmaß der durch die Apherese bedingten Beeinträchtigung von Funktionalität, Überlebensfähigkeit und Aktivierung der Thrombozyten mit jenem „typischer“ Lagerungsschäden zu vergleichen, und zum anderen, mögliche Schädigungen aufzudecken, die zwar durch die Apherese bedingt sind, sich jedoch erst verzögert manifestieren.

Wie auch bei der Erythrozytenaufbereitung spielt die Zentrifugenglocke bei der Aufteilung des Ausgangsblutes in seine Bestandteile eine zentrale Rolle. Glocken verschiedener Größen weisen zwangsläufig Unterschiede im Design auf, was sich vermutlich auch auf die Resultate des Aphereseprogramms auswirkt. Um zu überprüfen, ob die Wahl der Glockengröße signifikanten Einfluss auf die Konzentration der Thrombozyten sowie deren Qualitätsparameter nimmt, erfolgte die Testung des Aphereseprogramms daher gleichermaßen mit allen vier verfügbaren Glockengrößen.

Da die Xtra® eine Weiterentwicklung des etablierten MAT-Gerätes „Electa“ darstellt, sollte überprüft werden, ob sich die Ergebnisse deren Aphereseprogramme signifikant voneinander unterscheiden. Um dies zu ermöglichen, erfolgten die Experimente zur Erzeugung des Thrombozytenkonzentrates in der vorliegenden Studie für die beiden genannten Geräte unter den gleichen Bedingungen und mit denselben Parametern.

3 Material und Methodik

3.1 Funktionsweise des MAT-Gerätes „Xtra®“

Die Xtra® (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) zählt, wie beispielsweise auch der Cell Saver® (Haemonetics Corp., Braintree, MA, USA) oder die Electa (Sorin Group Italia S.r.l.) zu den diskontinuierlich arbeitenden maschinellen Autotransfusionssystemen. Diese Systeme verwenden Zentrifugenglocken verschiedener Größen die – im Gegensatz zu kontinuierlich arbeitenden Systemen – das anfallende Wundblut nur „portionsweise“ verarbeiten können.

3.1.1 Funktionsprinzip der Zentrifugenglocke

Ziel der maschinellen Aufbereitung von Wundblut ist es, aus dem angebotenen Gemisch aus Blut, Spül- und Gewebeflüssigkeit lediglich die Erythrozyten zu bergen und alle anderen – zum Großteil schädlichen – Substanzen wie Zelltrümmer, freies Hämoglobin, aktivierte Gerinnungsfaktoren und Entzündungsfaktoren zu verwerfen.

Zu diesem Zwecke hat sich die Zentrifugation als probates Mittel etabliert. Gemäß der Stokesschen Gleichung sedimentieren Zellen entsprechend ihrer Dichte und ihrer Größe. Im Blut weisen Erythrozyten mit einem spezifischen Gewicht von 1,100 g/ml die höchste Dichte auf, gefolgt von neutrophilen Granulozyten mit 1,082 g/ml und Lymphozyten mit 1,070 g/ml [146]. Monozyten und Thrombozyten weisen eine nochmals geringere Dichte auf [146]. Setzt man (antikoaguliertes) Blut demnach lange genug einer entsprechenden Zentrifugalkraft aus, so bilden sich im zentrifugierten Gefäß zwei Banden aus: Nahe der Rotationsachse findet sich plättchenarmes Plasma, fern der Rotationsachse Erythrozytenkonzentrat. An der Grenze zwischen diesen beiden Banden findet sich der sogenannte buffy coat, eine dünne Schicht aus Leukozyten und Thrombozyten.

Auf dieser Trennung in Plasma und Erythrozyten basiert eine in den 70er Jahren des 20. Jahrhunderts von Allan „Jack“ Latham Jr. eingeführte Zentrifugenglocke, die ihm zu Ehren auch als Latham-Glocke bezeichnet wird [147, 148]. Eine solche Glocke verrichtet auch in den hier untersuchten Geräten „Electa Concept“ und „Xtra®“ (beide von Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) ihre Dienste.

Die Latham-Glocke besteht aus zwei Einheiten: einem feststehenden Innen- und einem drehbaren Außenteil. Das äußere Bauteil stellt die eigentliche Zentrifugenkammer dar – hier werden die Erythrozyten entsprechend ihrer hohen Dichte vom Plasma und den restlichen Bestandteilen des Wundblutes getrennt und mit Hilfe der Spülflüssigkeit gewaschen. Das innere Bauteil hingegen ist fixiert und ermöglicht das Füllen, Spülen und Entleeren des äußeren Glockenteils, während sich dieses dreht (vergleiche hierzu Abbildung 3-1).

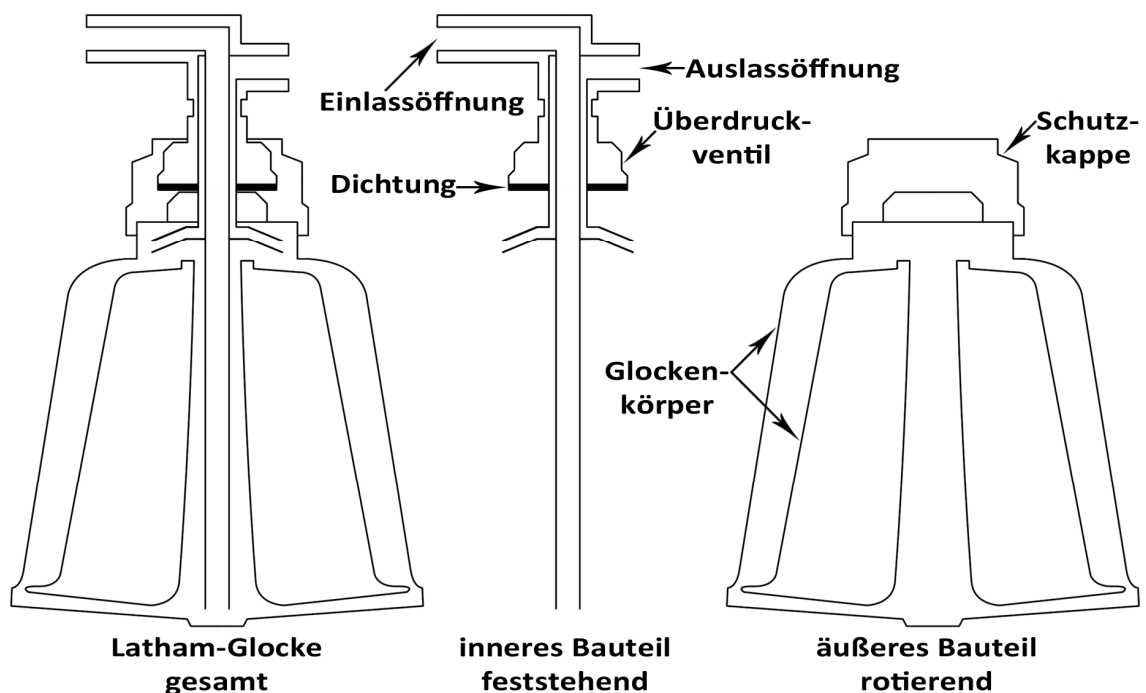


Abbildung 3-1. Bestandteile der Latham-Glocke

Gestartet werden kann die Aufbereitung, wenn sich im Reservoir des MAT-Gerätes eine bestimmte Menge Wundblut angesammelt hat: Der äußere Teil der Zentrifugenglocke beginnt zu rotieren, während eine Rollerpumpe Blut aus dem Sammelreservoir an den Grund der Glocke pumpt. Durch die Zentrifugalkraft sammeln sich die Erythrozyten an der Wand der Glocke, nach innen folgen der buffy coat und die leichten Bestandteile des Wundblutes (siehe Abbildung 3-2). Der Überstand (1) fließt derweil durch eine oben gelegene Öffnung (4) in den Abfallbeutel. Diese sogenannte Füll-Phase dauert so lange an, bis der buffy coat die obere Biegung der Glocke erreicht hat, was das Gerät durch einen Sensor registriert. [149]

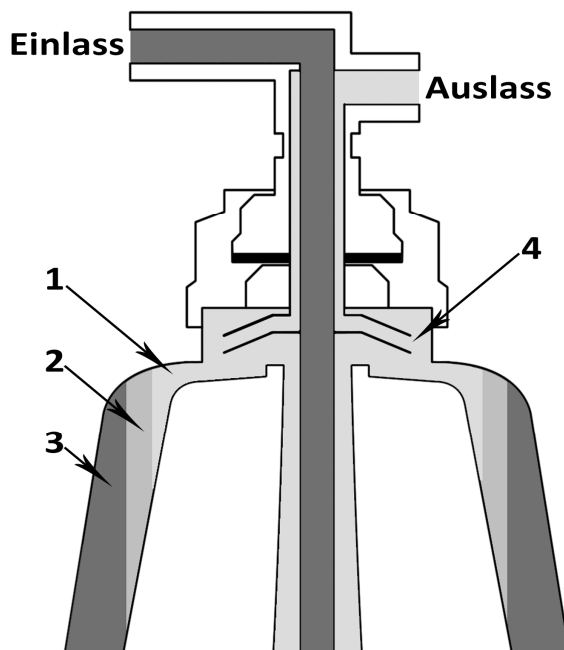


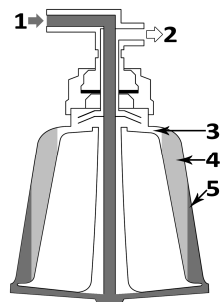
Abbildung 3-2. Schnitt durch die Latham-Glocke. Skizziert nach einer Abbildung aus [149]. Abgebildet ist der Schnitt durch eine Latham-Glocke bei laufendem Betrieb. Aufgrund der Zentrifugalkraft trennen sich die verschiedenen Bestandteile der in der Glocke befindlichen Flüssigkeit gemäß ihrer Größe und Dichte auf und bilden im Idealfall klar abgrenzbare Banden. Die leichteren Bestandteile können die Glocke über den nahe der Rotationsachse gelegenen Auslass verlassen.

- 1) leichtere Bestandteile
- 2) buffy coat
- 3) Erythrozyten
- 4) zur Auslassöffnung

Es folgt automatisch die Wasch-Phase, welche damit beginnt, dass die dem Reservoir entspringende Leitung verschlossen und stattdessen die vom Beutel mit der Waschlösung kommende Leitung geöffnet wird. Statt Blut aus dem Reservoir wird nun die Waschlösung (isotone Kochsalzlösung) an den Grund der Glocke gepumpt, von wo aus sie kontinuierlich durch das Erythrozytensediment strömt und die Glocke in Richtung Abfallbeutel verlässt (4). Dadurch werden die unerwünschten und potentiell gefährlichen Blutkom-

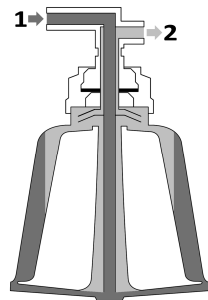
ponenten wie Zellfragmente, freies Hämoglobin, Fibrinolyseprodukte und aktivierte Faktoren der Gerinnung eliminiert. Der verworfene Überstand klart hierbei zusehends auf, was von einem weiteren Sensor registriert wird. Nachdem ein definiertes – je nach verwendetem Programm und Glockengröße unterschiedliches – Volumen an Waschlösung durch die Glocke gepumpt wurde, geht das Gerät automatisch zur Leer-Phase über.

Zur Einleitung der Entleerung werden die Zentrifuge und die Rollerpumpe angehalten. Steht die Zentrifuge still, beginnt die Pumpe sich in die entgegengesetzte Richtung zu drehen, sodass sie nun aus der Glocke heraus, statt in sie hinein pumpt. Das gewaschene Erythrozytenkonzentrat wird auf diese Weise vom Boden der Glocke durch die Einlass-Öffnung in den bereitstehenden Retransfusionsbeutel befördert. Bevor allerdings der Schlauch zum Retransfusionsbeutel freigegeben wird, pumpt das Gerät den im Schlauchsystem verbliebenen Rest an Spüllösung zurück in den entsprechenden Beutel, um eine zu starke Verdünnung des Blutes im Retransfusionsbeutel zu vermeiden. Die Pumpe arbeitet so lange weiter, bis sie anfängt, statt des Erythrozytenkonzentrates Luft anzusaugen. Bereits die erste Luftblase wird von einem entsprechenden Sensor erkannt, was einen sofortigen Stopp der Rollerpumpe und somit das Ende der Aufbereitungsprozedur zur Folge hat. Abbildung 3-3 fasst den gesamten Aufbereitungszyklus anschaulich zusammen.

**Füll-Phase**

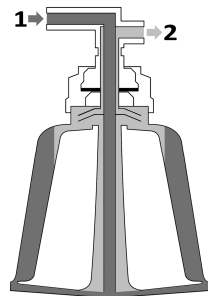
Das Blut aus dem Reservoir strömt in die rotierende Glocke. Die Separation beginnt.

- 1) Wundblut aus dem Sammelreservoir
- 2) Luft zum Abfallbeutel
- 3) Luft; 4) Überstand; 5) Erythrozytenkonzentrat

**Füll-Phase**

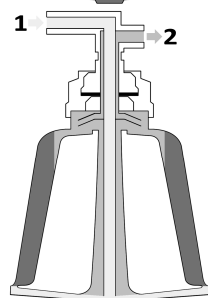
Der Überstand fließt in den Abfallbeutel, während die Erythrozyten in der Glocke verbleiben.

- 1) Wundblut aus dem Sammelreservoir
- 2) Überstand zum Abfallbeutel

**Abschluss der Füll-Phase**

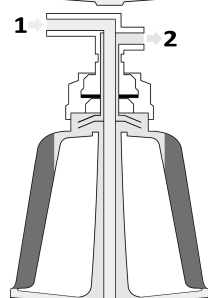
Mit andauernder Separation erreicht der buffy coat (als Rand der Erythrozytenbande) die Schulter der Glocke.

- 1) Wundblut aus dem Sammelreservoir
- 2) Überstand zum Abfallbeutel

**Wasch-Phase**

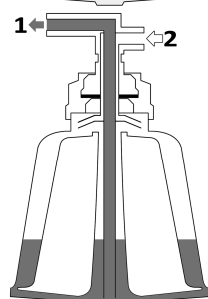
Statt Wundblut wird Kochsalzlösung als Spülflüssigkeit in die Glocke gepumpt. Diese durchströmt die sedimentierten Erythrozyten und wäscht so die übrigen Blutkomponenten aus.

- 1) Kochsalzlösung aus dem Beutel für Spülflüssigkeit
- 2) Überstand / Waschlösung zum Abfallbeutel

**Wasch-Phase**

Mit der Zeit finden sich im Überstand immer weniger Abfallstoffe, so dass dieser zunehmend aufklart.

- 1) Kochsalzlösung aus dem Beutel für Spülflüssigkeit
- 2) klarer Überstand zum Abfallbeutel

**Leer-Phase**

Die Rotation der Glocke wird gestoppt, die Rollerpumpe dreht sich in die entgegengesetzte Richtung. Das gewaschene Erythrozytenkonzentrat verlässt die Glocke in Richtung Retransfusionsbeutel.

- 1) Erythrozytenkonzentrat zum Retransfusionsbeutel
- 2) Luft aus dem Abfallbeutel

Abbildung 3-3. Arbeitsweise der Latham-Glocke. Skizziert nach einer Abbildung aus [150].

3.1.2 Der Autotransfusionskreislauf

Abbildung 3-4 gibt am Beispiel der Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) einen schematischen Überblick über den Aufbau des intraoperativen Autotransfusionskreislaufs.

Am Anfang der Wundblutaufbereitung steht das Sammeln von Patientenblut in einem Reservoir (2), was intraoperativ mittels chirurgischem Sauger oder postoperativ mittels Wunddrainage (beides 7) geschehen kann. Eine Vakuumpumpe (11) sorgt dafür, dass im Reservoir Unterdruck herrscht. Durch Zugabe von Antikoagulans-Lösung (1) wird sichergestellt, dass das gewonnene Blut nicht gerinnt. Ist der Patient – wie beispielsweise beim Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine üblich – vollständig antikoaguliert, so kann auf diese externe Beimischung verzichtet werden. Je nach verwendetem Reservoir wird das Wundblut bereits bei der Aufnahme, spätestens aber beim Leeren des Reservoirs (8) gefiltert. Mittels der eingesetzten Mikrofilter (40 – 150 µm) werden so bereits größere Partikel und Zellaggregate aus dem gesammelten Blut gefiltert.

Eine Rollerpumpe (12) pumpt so lange Blut aus dem Reservoir (2) in die rotierende Zentrifugenglocke (6), bis ein bestimmtes Füllvolumen erreicht ist. Durch Schließen der Klemme am Reservoirschlauch (21) und Öffnen der Klemme am Waschlösungsschlauch (22) befördert dieselbe Pumpe (12) nun Waschlösung (4) in die Zentrifugenglocke. Während diesem Waschvorgang fließt der unerwünschte Überstand in den Abfallbeutel (5).

Ist der Waschvorgang beendet, schließt sich die Klemme am Waschlösungsschlauch (22) wieder und eine andere Klemme (20) gibt den Weg in den Retransfusionsbeutel (3) frei, in welchen das gewaschene Erythrozytenkonzentrat von der nun entgegengesetzt drehenden Rollerpumpe (12) transportiert wird.

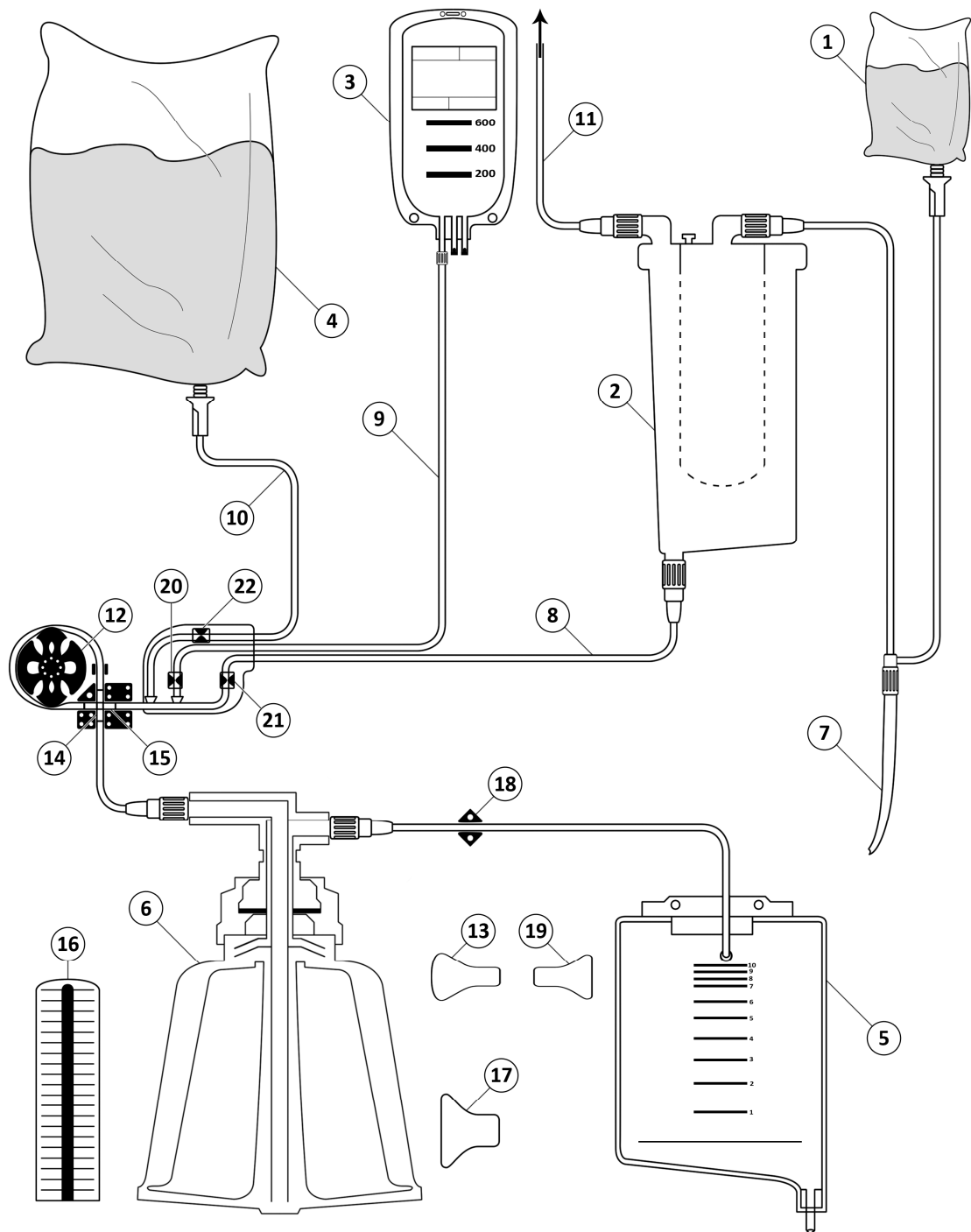


Abbildung 3-4. Der Autotransfusionskreislauf. Skizziert nach einer Abbildung aus [149].

- | | |
|------------------------------|---|
| 1) Antikoagulans-Lösung | 12) Rollerpumpe |
| 2) Wundblut-Reservoir | 13) Sensor für buffy coat |
| 3) Retransfusionsbeutel | 14) Luftsensor |
| 4) Waschlösung | 15) Hämatokritsensor |
| 5) Abfallbeutel | 16) Flüssigkeitsverlustsensor in der Zentrifuge |
| 6) Zentrifugenglocke | 17) Barcodelesesystem |
| 7) Absaugkanüle | 18) Waschqualitätsensor |
| 8) Reservoirschlauch | 19) Niveausensor für Abfallbeutel |
| 9) Retransfusionsschlauch | 20) Überdrucksensor / Klemme (automatisch) |
| 10) Waschlösungsschlauch | 21) Klemme (automatisch) |
| 11) Schlauch zur Vakuumpumpe | 22) Klemme (automatisch) |

3.1.3 Der Apheresekreislauf

Neben der Aufbereitung von Wundblut ermöglichen diskontinuierlich arbeitende maschinelle Autotransfusionssysteme wie Haemonetics Cell Saver®, Electa oder Xtra® (beide Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) durch sogenannte Plasmaphereseverfahren auch die Aufteilung von Patientenblut in Erythrozytenkonzentrat und Plasma, wobei das Plasma nochmals in eine thrombozytenreiche und eine thrombozytenarme Fraktion unterteilt werden kann. Je nachdem, ob diese beiden Fraktionen im gleichen Transfusionsbeutel gesammelt oder auf zwei Stück aufgeteilt werden sollen, spricht der Hersteller Sorin bei der Verwendung eines einzigen Beutels vom PRP1- und beim Einsatz zweier Beuteln vom PRP2-Verfahren. Die Abbildung 3-5 gibt am Beispiel der Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l.) einen schematischen Überblick über den Aufbau des präoperativen Apheresekreislaufs.

Im Unterschied zum Autotransfusionskreislauf kommt bei der Apherese statt eines Blutreservoirs ein Transferbeutel (1) zum Einsatz, der mit Patientenvollblut gefüllt ist, welches per ACD-A (Acidum-citricum-Dextrose, Lösung A) oder CPD-1 (Citrat-Phosphat-Dextrose-1) antikoaguliert wurde.

Startet man den Apheresevorgang, so wird die Zentrifugenglocke (6) in Rotation gesetzt, bis sie eine voreingestellte Geschwindigkeit erreicht hat. Sodann beginnt sich die Rollerpumpe (10) im Uhrzeigersinn zu drehen und das Blut aus dem Beutel (1) in die Glocke (6) zu pumpen: Die sogenannte Füll-Phase beginnt. Wie bereits ausführlich unter 3.1.1 beschrieben, lagern sich die Erythrozyten gemäß ihrem spezifischen Gewicht und ihrer Größe fern der Rotationsachse an der Wand der Glocke an, gefolgt von der dünnen Schicht des buffy coat, in der sich Leukozyten und Thrombozyten sammeln. Nahe der Rotationsachse – und damit nahe am Auslass der Zentrifugenglocke – sammelt sich die Plasmafraktion, welche die Glocke bei zunehmender Füllung durch ebendiesen Auslass verlässt. Während dieser Überstand beim Autotransfusionskreislauf direkt in den Abfallbeutel (3) geleitet und somit verworfen werden würde, führt die Leitung im Falle der Apherese über die offene Klemme (22) in den Plasmasammelbeutel (5). Da dieses Plasma

vergleichsweise wenig Thrombozyten enthält, wird es vom Hersteller als „platelet-poor plasma“ (PPP) bezeichnet.

Sobald der buffy coat den entsprechenden Sensor (11) erreicht, ist die Füll-Phase beendet und es beginnt die sogenannte Spill-Phase, in der das Blut weiter getrennt und die Thrombozyten für die weitere Verwendung angereichert werden. Während die Rollerpumpe (10) still steht, verringert sich mit dem Einsetzen der Spill-Phase die Geschwindigkeit der Zentrifuge konstant bis auf einen vorher programmierten Wert. Dadurch werden die Blutbestandteile weniger stark komprimiert, der buffy coat steigt und es tritt „plättchenarmes“ Plasma aus der Zentrifugenglocke. Der buffy coat benötigt nun eine gewisse Zeit um sich zu stabilisieren, bevor er durch ein erneutes Aktivieren der Pumpe (10) aus der Glocke befördert wird. Bevor dies geschieht, muss im PRP2-Verfahren Klemme (22) geschlossen und Klemme (21) geöffnet werden, damit sich der buffy coat in seinem eigenen Beutel (4) sammelt. Den Inhalt dieses Beutels (4) bezeichnet der Hersteller als „platelet-rich plasma“ (PRP). Sobald ein voreingestelltes „Spill-Volumen“ erreicht ist, stoppen Rollerpumpe und Zentrifuge automatisch.

In der anschließenden Leer-Phase schließt sich die Klemme des Transferbeutels (19). Dafür öffnet sich die Klemme zum Retransfusionsbeutel (18), sodass der Inhalt der stillstehenden Glocke (6) über die sich entgegen den Uhrzeigersinn drehende Rollerpumpe (10) in diesen Beutel (2) gefördert werden kann. Dieser Vorgang stoppt, sobald der Luftsensor (12) durch die heraustretende Luft aktiviert wird.

Am Ende des Vorgangs befinden sich im Retransfusionsbeutel (2) konzentrierte Erythrozyten, im „PPP-Sammelbeutel“ (5) Plasma mit geringem Thrombozytenanteil und im „PRP-Sammelbeutel“ (4) schließlich der buffy coat zusammen mit einem gewissen Anteil an Plasma und Erythrozyten.

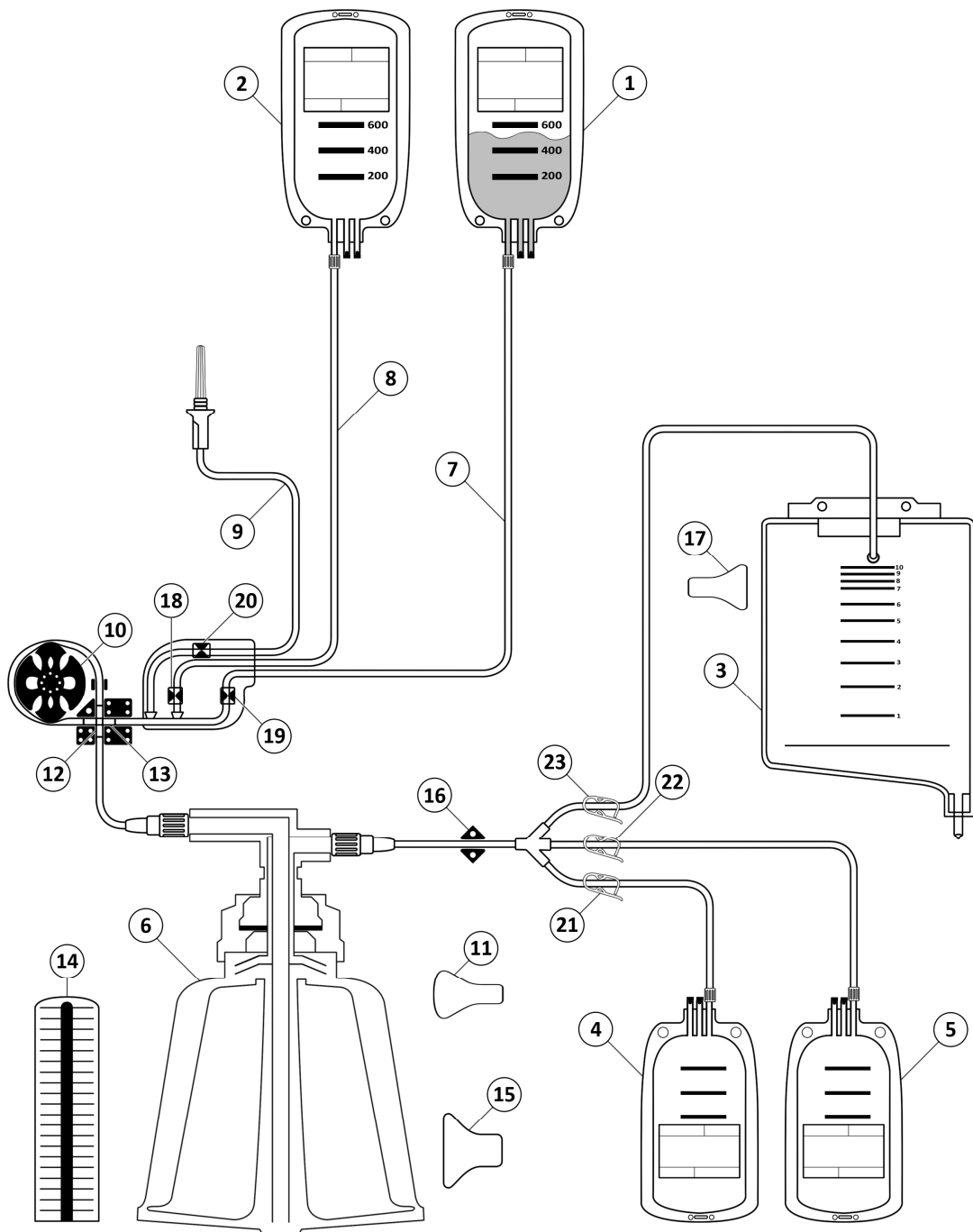


Abbildung 3-5. Der Apheresekreislauf. Skizziert nach einer Abbildung aus [149].

- | | |
|--|--|
| 1) Transferbeutel | 11) Sensor für buffy coat |
| 2) Retransfusionsbeutel | 12) Luftsensor |
| 3) Abfallbeutel | 13) Hämatokritsensor |
| 4) PRP-Sammelbeutel | 14) Flüssigkeitsverlustsensor |
| 5) PPP-Sammelbeutel | 15) Barcodelesesystem |
| 6) Zentrifugenglocke | 16) Waschqualitätssensor |
| 7) Schlauch zur Blutquelle | 17) Niveausensor für den Abfallbeutel |
| 8) Schlauch zum Retransfusionsbeutel | 18) Überdrucksensor / Klemme (automatisch) |
| 9) Schlauch für Waschlösung (nicht benötigt) | 19, 20) Klemmen (automatisch) |
| 10) Rollerpumpe | 21–23) Klemmen (manuell) |

3.2 Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Erythrozyten

3.2.1 Blutspenden und deren Aufbereitung

Grundlage für das Testblut stellten im Rahmen der Studie gewonnene Blutspenden dar. Hierbei wurde das mittels einer Dialysekanüle (17 G Dialysekanüle, REF 543-VGAM, Bionic Medizintechnik GmbH, Friedrichsdorf, Deutschland) abgenommene Blut in Autotransfusionsbeuteln (Autologous Blood Transfer Bag 1000 ml, Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) gesammelt, welche Bestandteil des Xtra®-Glocken-Sets waren und für die nachfolgenden Versuche keine Verwendung fanden. Eine Beimischung von 5 IE/ml Heparin (Heparin-Natrium 25000, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) stellte die Antikoagulation des Blutes sicher. Durch eine maximale Lagerungszeit von 3 Tagen zwischen Blutspende und Versuchsdurchführung sollten lagerungsbedingte Schäden an den Erythrozyten so gering wie möglich gehalten werden. Für jeden einzelnen der insgesamt 5 Versuchstage wurden 11 bis 12 Blutspenden benötigt, welche jeweils etwa 500 ml Vollblut umfassten.

Um während der einzelnen Versuchstage etwaige Schwankungen in der Zusammensetzung des verwendeten Testblutes zu minimieren, wurden pro Ansatz sämtliche für diesen Versuchstag bereitstehenden Spenden miteinander vermengt und sorgfältig durchmischt. Um dies zu ermöglichen, fand an jedem Versuchstag nur Blut einer einzigen der vier Hauptblutgruppen (A, B, AB oder 0) Verwendung. Eine orientierende Bestimmung des Hämatokrits erfolgte mittels Blutgasanalyse (RAPIDPoint® 405, Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Deutschland).

Um der Zusammensetzung von Wundblut besser zu entsprechen, wurde zum einen der Ausgangshämatokrit des Testbluts deutlich gesenkt, zum anderen der Grad der Hämolysen auf einen hohen, definierten Wert eingestellt.

Die Erzeugung des zu diesem Zwecke benötigten Hämolysats fand bereits einige Zeit vor der Durchführung der eigentlichen Versuche statt. Hierzu wurden verfallene Blutkon-

serven je drei Mal auf $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren und wieder aufgetaut. Eine abschließende Zentrifugation diente der Abscheidung der korpuskulären Bestandteile. Am Versuchstag wurde das vermischte Vollblut nun mit einem Volumen dieses Hämolysats versetzt, das 20 % des Volumens der im Ansatz enthaltenen Erythrozyten – errechnet aus Hämatokrit und Volumen des Ansatzes – entsprach.

Für die Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Erythrozyten war geplant, Testblut mit zwei verschiedenen Hämatokritwerten einzusetzen, um das Wundblut der zwei typischen Einsatzgebiete der maschinellen Autotransfusion zu imitieren: zum einen herzchirurgische Eingriffe mit dem Testblut „Cardio“, zum anderen orthopädische Operationen wie das Einsetzen von Hüft- oder Knieprothesen mit dem Testblut „Ortho“. Das Absenken des Hämatokrits auf 25 % – und damit die Herstellung des Testbluts „Cardio“ – erfolgte durch die Zugabe definierter Mengen an isotoner, mit 5 IE Heparin pro Milliliter versetzter Kochsalzlösung (Isotone Kochsalz-Lösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Durch nochmaliges Verdünnen der Hälfte dieses „Cardio“-Testblutes entstand das Testblut „Ortho“, welches einen Hämatokrit von 10 % aufwies.

Regelmäßiges Durchmischen des Blutes vor den einzelnen Testläufen und vor Entnahme der Proben verhinderte die Sedimentation der schweren Blutbestandteile und verbesserte die Homogenität des Testblutes über den gesamten Versuchstag.

3.2.2 Versuchsaufbau

Für die Durchführung der Studie wurde der Aufbau der Xtra® gegenüber der für den operativen Einsatz konzipierten Standardkonfiguration an einigen Stellen modifiziert.

Das Einsetzen der Glocke mit dem integrierten Schlauchsystem erfolgte gemäß den Herstellerangaben. Der Abfallbeutel, welcher dem Glocken-Set beilag wurde vorschriftsgemäß installiert, der Retransfusionsbeutel hingegen fand keine Verwendung. Als Waschlösung diente isotone Kochsalzlösung (3000 ml NaCl 0,9 %, Fresenius SE & Co. KGaA, Bad Homburg, Deutschland).

Statt eines speziellen Reservoirs kam meist ein Messzylinder zum Einsatz – je nach vorgegebenem Volumen mit einem Fassungsvermögen von 500 oder 1.000 ml. Für größere Volumina wurde auf ein Becherglas zurückgegriffen. Zur Aufnahme des gewaschenen Erythrozytenkonzentrates standen ebenfalls Messzylinder bereit – entsprechend der zu erwartenden Volumina mit Fassungsvermögen von 100 oder 250 ml. Der Verzicht auf Reservoir und Retransfusionsbeutel zugunsten der verwendeten Messgefäße ermöglichte eine exakte Bestimmung der jeweiligen Volumina.

Um die im Schlauchsystem verbleibenden Flüssigkeitsreste so gering wie möglich zu halten, wurden die Messzylinder für das angebotene Testblut und das gewonnene Erythrozytenkonzentrat unmittelbar neben der Xtra® platziert, und die zu diesen Gefäßen führenden Schläuche möglichst kurz abgeschnitten.

Die vom Hersteller voreingestellten Parameter der verschiedenen Waschprogramme blieben für alle Versuche unangetastet. Tabelle 3-1 bietet einen Überblick über besagte Parameter.

Tabelle 3-1. Verfahrensparameter des getesteten MAT-Geräts „Xtra®“

Glocke; Programm	Volumenstrom (ml/min)					Volumen (ml)
	„füllen“	„waschen“	„leeren“	„zurück“	„konz.“	Waschlösung
BT55; Pem	350	400	200	200	200	300
BT55; Pstd	300	100	150	150	200	300
BT55; Popt	300*	100	150	150	200	200
BT125; Pem	500	800	500	300	350	800
BT125; Pstd	300	250	250	250	350	900
BT125; Popt	450*	250	300	250	350	800
BT175; Pem	450	800	450	300	450	900
BT175; Pstd	350	350	250	250	450	1.000
BT175; Popt	550*	450	400	250	450	1.000
BT225; Pem	400	800	500	300	300	1.000
BT225; Pstd	350	800	450	250	300	800
BT225; Popt	400*	500	400	250	300	1.000

„füllen“: Einstrom der im Reservoir befindlichen Flüssigkeit in die rotierende Zentrifugenglocke;
 „waschen“: Waschlösung durchströmt die Erythrozytenbande und entfernt so Plasmaproteine;
 „leeren“: Inhalt der Glocke wird nach dem Waschvorgang in den Retransfusionsbeutel gepumpt;
 „zurück“: Inhalt der Glocke wird auf Befehl des Anwenders in das Reservoir zurück befördert;
 „konz.“: Inhalt des Retransfusionsbeutels wird auf Befehl wieder in die Glocke zurück gepumpt;
 BT55, BT125, BT175 und BT225: Glocken mit Fassungsvermögen von 55, 125, 175 und 225 ml;
 Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit, das automatisch „optimierte“ Werte verwendet;
 *: Während der Füll-Phase variiert das Programm Popt selbständig die Durchflussmenge. Daher repräsentieren die hier angegebenen Werte nur den Volumenstrom zu Beginn dieser Phase.

3.2.3 Versuchsablauf

Wird das Einmal-System, bestehend aus der Zentrifugenglocke und den zugehörigen Schlauchverbindungen, zum ersten Mal verwendet, so geht unweigerlich ein gewisser Teil der eingesetzten Erythrozyten verloren: Auf dem Glockenboden bleibt immer ein kleiner Rest an erythrozytenhaltiger Flüssigkeit zurück und auch die Wand der Glocke und eines Teils des Schlauchsystems bleibt leicht von Erythrozyten benetzt. Aus diesem Grunde sollten sich Qualitätskontrollen nicht auf die erste Aufbereitung nach dem Einsetzen eines „frischen“ Einmal-Systems stützen, oder diese zumindest separat betrachten.

Die Durchführung eines zusätzlichen „1. Laufes“ führt jedoch gerade bei den großen Glocken zu einem deutlichen Mehrbedarf an Testblut und somit zu einer höheren Belastung der potentiellen Spender. So wäre im Rahmen der vorliegenden Studie beim Durchführen eines „1. Laufes“ pro Testtag ein zusätzliches Volumen von etwa 760 ml Vollblut nötig gewesen, was zwei weiteren Blutspenden entspräche. Stattdessen erfolgte in dieser Studie nach Installation der Glocke zunächst immer ein „prefilling“ mittels unverdünnten Vollbluts. Dazu wurde der Reservoirschlauch der Xtra® in ein Becherglas mit besagtem Vollblut gehalten und das Programm Pstd gestartet. Sobald das Gerät laut Anzeige 30 bis 50 ml Blut in die Zentrifugenglocke gepumpt hatte, erfolgte durch Betätigen der Stopp-Taste der Abbruch des Programms. Durch anschließendes zweimaliges Ausführen des Befehls „Return“ pumpte das Gerät das in Glocke und Schlauchsystem verbliebene Blut zurück in das oben genannte Becherglas.

Nach dem „prefilling“ wurde das bereitstehende „Cardio“-Testblut gut durchmischt und in einen Messzylinder gefüllt, dessen Fassungsvermögen sich nach dem zu erwartenden Verbrauch richtete: 500 ml für die 55-ml-Glocke, 1.000 ml für die restlichen Glocken. Nach Platzierung des Reservoirschlauchs am Grunde des Messzylinders erfolgte der Start des Notfallprogramms „Pem“ – zeitgleich mit der Betätigung der Stoppuhr. Eine Aktivierung des Notfallprogramms ist über ein eigenes Icon prinzipiell jederzeit möglich – unabhängig vom vorher gewählten Waschprogramm. Nach erfolgtem Auswurf des gewaschenen Erythrozytenkonzentrates – erkennbar am Anhalten der Rollerpumpe – wurde die

Stoppuhr wieder angehalten. Da die Xtra® bei Werkseinstellung im Notfallmodus sofort nach Beendigung eines Waschzyklus den nächsten Füllvorgang startet, war zusätzlich ein Druck auf die Stopptaste nötig. Bei den Programmen Pstd und Popt ist dies hingegen nicht der Fall.

Anschließendes zweimaliges Durchführen des Befehls „Extra Empty“ bewirkte, dass die Rollerpumpe auch den im Retransfusionsschlauch verbliebenen Rest an Erythrozytenkonzentrat in den Messzylinder für das Produkt beförderte. Daraufhin wurden an den Skalen der Messzylinder die Volumina des verwendeten Testbluts und des erzeugten Produkts abgelesen sowie Proben für die Laborbestimmungen und die Blutgasanalyse des Erythrozytenkonzentrats entnommen.

Nach dem Entleeren des Produktzylinders und dem Wiederauffüllen des Reservoirzylinders mit „Cardio“-Testblut schloss sich der nächste Testlauf an. Auf das Notfallprogramm „Pem“ folgte dabei immer das Standardprogramm „Pstd“. Auch hierbei erfolgte eine Zeitmessung mittels Stoppuhr sowie das zweimalige Entleeren des Systems mittels „Extra Empty“. Die Entnahme der Proben sowie das Ablesen der verarbeiteten bzw. produzierten Volumina gestaltete sich immer gleich.

Der anschließende Testlauf galt dem – nach Herstellerangaben [149] – auf Zeit und Hämatokrit optimierten Programm Popt. Das Vorgehen war dabei prinzipiell das gleiche wie beim Standardprogramm.

Im Anschluss an die drei Läufe mit „Cardio“-Testblut folgten in derselben Reihenfolge die drei Läufe mit „Ortho“-Testblut. Ein „prefilling“ fand hier jedoch nicht statt, da die Glocke nach den „Cardio“-Läufen – zwecks besserer Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen der „Ortho“-Testläufe – in der Maschine verblieb. In jedem der 5 durchgeführten Experimente wurden auf diese Weise nacheinander die Glocken der Größe 125-, 175-, 55- und 225-ml betrachtet.

3.2.4 Probenentnahme

Um eine möglichst hohe Repräsentativität der Proben zu gewährleisten, erfolgte vor jeder Probenentnahme eine gründliche Durchmischung der zu testenden Flüssigkeiten. Im Einzelnen wurden befüllt: ein 15-ml-Falcon™-Tube (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), eine 4-ml-EDTA-Monovette® (SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) sowie eine Blutgasanalyse-Spritze (cobas® BS2 Blood Sampler, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland).

Alle Proben wurden zeitnah weiterverarbeitet:

- Aus der Blutgas-Probe erfolgte mittels Blutgasanalyse (GEM® Premier™ 3500, Instrumentation Laboratory Company, Bedford, MA, USA) die Bestimmung der Kaliumkonzentration.
- Aus der Probe in der EDTA-Monovette® erstellte das Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg ein „kleines“ Blutbild.
- Die Probe im 15-ml-Falcon™-Tube bildete nach zehnminütiger Zentrifugation bei 2.000 g_n (Megafuge® 1.0 R, Heraeus Sepatech GmbH, Osterode, Deutschland) einen Plasma-Überstand aus, welcher in je zwei Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt und anschließend bei –20 °C eingefroren wurde.

3.2.5 Messparameter

Die im Folgenden aufgeführten Parameter bildeten die Datenbasis der Auswertung der Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Erythrozyten.

Physikalische Parameter

- Zeitbestimmung:
Mittels einer Stoppuhr wurde die Zeitspanne zwischen Beginn und Ende des Waschvorganges erfasst, wobei das manuelle Starten des Programmes den Beginn und das Anhalten der Rollerpumpe dessen Ende markierten.

- Volumenbestimmung (Ausgangsbloodvolumen, Produktvolumen):

Die Bestimmung der Volumina erfolgte mittels entsprechend dimensionierter Standmesszylinder.

Laborparameter

- Zelluläre Parameter
 - Hämatokrit
 - Leukozytenkonzentration
 - Thrombozytenkonzentration
- Lösliche Parameter
 - Albuminkonzentration
 - Gesamteiweißkonzentration
 - Konzentration an freiem Hämoglobin
 - Kaliumkonzentration
 - Heparinkonzentration

3.2.6 Auswertung der Ergebnisse

3.2.6.1 Berechnete Parameter

Erythrozytenproduktion

Die „Produktion“ an Erythrozyten [ml/min] errechnete sich aus Hämatokrit (Hkt) und Volumen (Vol) des erzeugten Erythrozytenkonzentrats (EK) sowie aus der zur Verarbeitung des Testblutes benötigten Zeit (t):

$$\text{Erythrozytenproduktion} = \frac{\text{Vol}_{EK} \times \frac{\text{Hkt}_{EK}}{100}}{t}$$

Eliminationsraten

Bei der Berechnung der Eliminations- oder Auswaschraten galt es zu beachten, dass hierbei durchgehend Parameter untersucht wurden, deren Konzentrationen sich nicht auf das Gesamtvolumen der untersuchten Blutproben bezogen, sondern auf deren Plasmafraktionen. Der prozentuale Anteil dieser Plasmafraktion am Gesamtvolumen lässt sich mit Hilfe des Hämatokrits folgendermaßen berechnen:

$$\text{Plasmafraktion} = 100 \% - \text{Hämatokrit}$$

Die Berechnung der Plasmafraktion floss in die Bestimmung der Eliminationsraten mit ein, welche nach folgendem Schema abgeleitet wurden:

$$\text{Eliminationsrate}_{\text{Par}} = 100 - 100 \times \frac{\text{Par}_{\text{EK}} \times \text{Vol}_{\text{EK}} \times \left(1 - \frac{\text{Hkt}_{\text{EK}}}{100}\right)}{\text{Par}_{\text{TB}} \times \text{Vol}_{\text{TB}} \times \left(1 - \frac{\text{Hkt}_{\text{TB}}}{100}\right)}$$

Dabei gilt:

- Vol = Volumen
- Hkt = Hämatokrit
- EK = produziertes Erythrozytenkonzentrat
- TB = verarbeitetes Testblut
- „Par“ stellt die Konzentration des Parameters dar, dessen Auswaschrate bestimmt wird.

Im Einzelnen sind das:

- Gesamteiweiß
- Albumin
- freies Hämoglobin
- Heparin
- Kalium

Ausbeute

Die Berechnung der Ausbeute [%] der verschiedenen Parameter erfolgte folgendermaßen:

$$Ausbeute_{par} = 100 \times \frac{Par_{EK} \times Vol_{EK}}{Par_{TB} \times Vol_{TB}}$$

Dabei gilt:

- Vol = Volumen
- EK = produziertes Erythrozytenkonzentrat
- TB = verarbeitetes Testblut
- „Par“ stellt die Konzentration des Parameters dar, dessen Ausbeute bestimmt wird.

Im Einzelnen sind das:

- Erythrozyten
- Leukozyten
- Thrombozyten

3.2.6.2 Direkte Parameter

Die Parameter „Verarbeitungszeit“ und „Produkthämatokrit“ flossen direkt in die Versuchsauswertung ein.

3.3 Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Thrombozyten

3.3.1 Versuchsaufbau

Im Rahmen dieser Studie wurden beim Aufbau der Geräte „Xtra“[®] und „Electa Concept“ einige Änderungen gegenüber der vom Hersteller empfohlenen Standardkonfiguration vorgenommen.

Das Einsetzen der Glocke mit dem integrierten Schlauchsystem erfolgte gemäß den Herstellerangaben. Allerdings fanden weder der Abfallbeutel, noch die Sammelbeutel für Erythrozytenkonzentrat, Plasma und buffy coat Verwendung. Das zu verarbeitende Blut stammte ebenfalls nicht aus einem Transfusionsbeutel, sondern befand sich in einem Glasmesszylinder (1.000 ml), sowie auch die Sammlung des Erythrozytenkonzentrates in einem gläsernen Messzylinder (500 ml) erfolgte. Ebenso wurde das gewonnene thrombozytenarme Plasma in einem Becherglas aufgefangen, während der buffy coat direkt in 50-ml-Falcon[™]-Tubes (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) floss.

3.3.2 Blutspenden und deren Aufbereitung

Um größtmögliche Funktionalität und Überlebensfähigkeit der Thrombozyten zu gewährleisten, erfolgten die Blutspenden im Rahmen der Plasmaphereseversuche erst unmittelbar am Morgen des jeweiligen Versuchstages. Für jeden Versuchstag waren vier Blutspenden zu je ca. 500 ml nötig. Diese wurden mittels einer 17 G Dialyse-Kanüle (REF 543-VGAM, Bionic Medizintechnik GmbH, Friedrichsdorf, Deutschland) abgenommen. Die verwendeten 500-ml-Transfusionsbeutel (Compoflex[®], REF T2116, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland) enthielten als Antikoagulans 70 ml CPDA-1 (Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin-1).

Zur Minimierung etwaiger Schwankungen in der Zusammensetzung des verwendeten Testblutes während der einzelnen Versuchstage wurden pro Ansatz sämtliche für die-

sen Versuchstag bereitstehenden Blutspenden miteinander vermengt und gründlich durchmischt. Um dies zu ermöglichen, fand je Versuchstag nur Blut einer einzigen der vier Hauptblutgruppen (A, B, AB oder 0) Verwendung. Nach der Bestimmung des Hämatokritwertes mittels Blutgasanalyse (RAPIDPoint® 405, Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Deutschland) erfolgte durch die gezielte Zugabe von isotoner Kochsalzlösung (Isotone Kochsalz-Lösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) eine Einstellung des Hämatokrits auf 35 Prozent.

Regelmäßiges Durchmischen des Blutes vor den einzelnen Aphereseläufen und vor Entnahme der Proben verhinderte die Sedimentation der „schweren“ Blutbestandteile und verbesserte die Homogenität des Testblutes über den gesamten Versuchstag.

3.3.3 Versuchsablauf

Bevor das frisch gewonnene, auf einen Hämatokritwert von 35 Prozent verdünnte Testblut in den 1.000-ml-Messzylinder gelangte, wurden zwei Proben zu je 50 ml zwecks Bestimmung der „Testblut“-Parameter abgenommen.

Die Messreihe begann mit dem Einsetzen der 175-ml-Glocke und dem Starten des Aphereseprogramms „PRP2“. Nach Beendigung der Füll-Phase und damit der Gewinnung des thrombozytenarmen Plasmas wurde das Plasma-Sammelgefäß zwecks Probengewinnung entfernt, das gesammelte Volumen bestimmt und die Klemme der entsprechenden Leitung verschlossen (vergleiche Abbildung 3-5). Stattdessen musste vor Aktivierung der Spill-Phase die Klemme der zum 50-ml-Falcon™-Tube führenden Leitung geöffnet werden, damit der buffy coat in dieses Gefäß fließen konnte. Anhand der Skala des Falcon™-Tubes erfolgte die Bestimmung des gewonnenen Volumens, bevor dessen gesamter Inhalt auf die einzelnen Probengefäße verteilt wurde.

Bei der abschließenden Leer-Phase förderte die Rollerpumpe das in der Glocke verbliebene Erythrozytenkonzentrat in einen bereitstehenden 500-ml-Messzylinder. Um zu gewährleisten, dass das gesamte Volumen des erzeugten Erythrozytenkonzentrates gemessen werden konnte, erfolgte mittels des Befehls „Extra Empty“ eine zusätzliche Lee-

rung des Retransfusionsschlauches. Die Skala der Messzylinder gab Auskunft über die Volumina an verwendetem Testblut und produziertem Erythrozytenkonzentrat. Aus dem gewonnenen Erythrozytenkonzentrat wurden zusätzlich Proben für die weiterführenden Analysen entnommen.

Das gleiche Procedere erfolgte bei den Glocken der anderen Größen. Dabei kam an jedem Versuchstag die Reihenfolge 175, 125, 55, 225 ml zum Einsatz. Für die beiden Geräte „Electa Concept“ und „Xtra®“ standen jeweils 5 Versuchstage zur Verfügung.

3.3.4 Probenentnahme

Die verschiedenen Vorgehensweisen zur Bestimmung der unterschiedlichen Messparameter machten es erforderlich, die Proben aus Testblut, Plasma, buffy coat und Erythrozytenkonzentrat gleich nach ihrer Gewinnung auf bis zu sechs verschiedene Probengefäße zu verteilen. Dabei stellte gründliches Durchmischen eine hohe Repräsentativität der Proben sicher.

Alle Proben wurden nach folgendem Schema aufgeteilt:

- 2,7 ml in einer Kalium-EDTA-Monovette® (Kalium-EDTA S-Monovette®, 2,7 ml, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) wurden zwecks Anfertigung eines „kleinen“ Blutbildes sowie eines Blutausstrichs zeitnah in das Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg gebracht. Dort unterlief die Fraktion des buffy coat als einzige Probe einer zusätzlichen Verdünnung im Verhältnis 1 : 3. Mit Ausnahme der Bestimmung von freiem Hämoglobin und Gesamtprotein fand die Verarbeitung der restlichen Proben im Labor der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Regensburg statt.
- 3 ml in einem CTAD-Röhrchen (BD Vacutainer® CTAD Tube, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) wurden sofort in ein Gemisch aus Wasser und gestoßenem Eis gegeben und dort für 15 Minuten abgekühlt. Innerhalb einer Stunde erfolgte eine 20-minütige Zentrifugation bei 2.500 g_n und 4 °C. Aus dem

resultierenden Überstand wurde das mittlere Drittel abpipettiert und erneut für 20 Minuten bei 2.500 g_n und 4 °C zentrifugiert. Das mittlere Drittel dieses Überstandes kam in den –20 °C kalten Gefrierschrank, um daraus später die Konzentration an β -Thromboglobulin zu bestimmen.

- 5–10 ml in einem 15-ml-Falcon™-Tube (BD Biosciences, San Jose, CA, USA) unterliefen 15 Minuten lang einer Zentrifugation bei 180 g_n (Megafuge® 1.0 R, Heraeus Sepatech GmbH, Osterode, Deutschland). Je 0,5 ml des Überstands wurden in zwei Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt und bei –20 °C eingefroren, um daraus später die Konzentrationen an löslichem P-Selektin sowie freiem Hämoglobin und Gesamtprotein zu bestimmen.
- 30 ml in einem 50-ml-Falcon™-Tube dienten der zeitkritischen Bestimmung der hypotonic shock response (HSR) und der Aggregometrie. Dazu erfolgte zunächst eine 15-minütige Zentrifugation mit 180 g_n bei Raumtemperatur, um als Überstand plättchenreiches Plasma zu gewinnen (PRP = platelet-rich plasma – cave: ebenso wird in den Handbüchern der getesteten MAT-Geräte jene Fraktion bezeichnet, welche den buffy coat enthält). Eine anschließende 10-minütige Zentrifugation bei 3.000 g_n unter Raumtemperatur erzeugte als Überstand plättchenarmes Plasma (PPP = platelet-poor plasma – cave: dieselbe Bezeichnung findet in den Handbüchern der getesteten MAT-Geräte für jenen Teil des durch Apherese gewonnenen Plasmas Verwendung, welchem nicht der buffy coat angehört; „plättchenarm“ heißt in diesem Falle lediglich „wesentlich weniger Plättchen als im buffy coat“) mit einer durchschnittlichen Thrombozytenkonzentration von 5.000 / μ l. Nach lichtmikroskopischer Bestimmung der Thrombozytenkonzentration beider Arten von Plasma mittels Neubauer-Zählkammer konnte das plättchenreiche Plasma durch Vermischen mit einem bestimmten Volumen des plättchenarmen Plasmas auf eine Thrombozytenkonzentration von 200.000 / μ l verdünnt werden. Dieses gemischte plättchenreiche Plasma (mPRP = mixed platelet-rich plasma) stellte die eigentliche Probe für die Durchführung der Aggregometrie und die Bestimmung der hypotonic shock response dar.

- 0,2 ml in einem Blutgasanalyse-Röhrchen (Lithium-Heparin S-Monovette®, 1,2 ml, SARSTEDT AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) lieferten – unmittelbar an einem Blutgasanalysegerät (RAPIDLAB® 865, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) gemessen – den pH-Wert der Probe.

Das verbliebene Probenvolumen wurde zunächst für 6 Stunden bei Raumtemperatur auf einem Stuart® Roller Mixer SRT9D (Bibby Scientific Ltd., Stone, Staffordshire, UK) gelagert, bevor es das oben genannte Procedere durchlief.

3.3.5 Messparameter

Die im Folgenden aufgeführten Parameter bildeten die Datenbasis der Auswertung der Versuche zur maschinellen Aufbereitung von Thrombozyten.

Physikalische Parameter

Die Volumenbestimmung des Testbluts sowie der verschiedenen Produkte erfolgte mittels entsprechend dimensionierter Standmesszylinder.

Laborparameter

- Zelluläre Parameter
 - Hämatokrit
 - Erythrozytenkonzentration
 - Leukozytenkonzentration
 - Hämoglobinkonzentration
- Lösliche Parameter
 - Gesamteiweißkonzentration
 - Konzentration an freiem Hämoglobin
 - pH-Wert

- Thrombozyten-Parameter
 - Zytometrie
 - mittleres Plättchenvolumen
 - Thrombozytenkonzentration
 - Morphologie-Score
 - hypotonic shock response
 - Thrombozytenaggregation
 - Aktivierung der Thrombozyten
 - β -Thromboglobulinkonzentration
 - Konzentration an löslichem P-Selektin

3.3.6 Auswertung der Ergebnisse

3.3.6.1 Berechnete Parameter

Thrombozytenanreicherung

Zur Quantifizierung der Thrombozytenanreicherung wurde der Faktor bestimmt, um den die Thrombozytenkonzentration des BCP jene des Testbluts übertraf:

$$q_{\text{Thrombozytenanreicherung}} = \frac{Thr_{BCP}}{Thr_{TB}}$$

Dabei gilt:

- Thr = Thrombozytenkonzentration
- BCP = buffy coat plasma
- TB = verarbeitetes Testblut
- „q“ stellt den Faktor dar, über den die Thrombozytenanreicherung quantifiziert wird: Sie wird angegeben als das q-fache der Konzentration des Testbluts.

Thrombozytenausbeute

Die Thrombozytenausbeute [%] wurde folgendermaßen berechnet:

$$\text{Thrombozytenausbeute} = 100 \times \frac{\text{Thr}_{BCP} \times \text{Vol}_{BCP}}{\text{Thr}_{TB} \times \text{Vol}_{TB}}$$

Dabei gilt:

- Vol = Volumen
- Thr = Thrombozytenkonzentration
- BCP = buffy coat plasma
- TB = verarbeitetes Testblut

Gesamtzahl der Thrombozyten

Zur Bestimmung der Gesamtzahl der Thrombozyten der verschiedenen Flüssigkeiten (Fl) Testblut (TB), buffy coat plasma (BCP) und pure plasma (PP) wurde deren Thrombozytenkonzentration (Thr) mit ihrem Volumen (Vol) multipliziert:

$$\text{Thrombozytenzahl}_{Fl} = \text{Thr}_{Fl} \times \text{Vol}_{Fl}$$

3.3.6.2 Direkte Parameter

Die folgenden Parameter gingen ohne weitere Berechnungen in die Auswertung ein:

- Thrombozytenkonzentration [Thrombozyten/nl]
- Gesamteiweiß [g/l]
- Freies Hämoglobin [mg/l]
- pH-Wert
- Mittleres Plättchenvolumen [fl]
- Morphologie-Score
- Regeneration der hypotonic shock response [%]
- Thrombozytenaggregation [%]
- β -Thromboglobulinkonzentration [IE/ml]
- Lösliches P-Selektin [ng/ml]

3.4 Qualitätsparameter der maschinellen Aufbereitung von Blutbestandteilen

3.4.1 Zelluläre Parameter

Aus den EDTA-Blutproben erstellte das Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg jeweils ein „kleines“ Blutbild, aus dem verschiedene Parameter in die Auswertung eingingen. Während für die bloße Qualitätskontrolle der Wundblutaufbereitung lediglich die Parameter Hämatokrit sowie Leukozyten- und Thrombozytenzahl berücksichtigt wurden, gingen in die Beurteilung der Apherese zusätzlich die Parameter Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl und mittleres Plättchenvolumen (MPV = mean platelet volume) mit ein. Hierfür kam das automatisierte Differential-Zellzählgerät Sysmex XE-5000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) zum Einsatz, welches für die oben aufgeführten Parameter unterschiedliche Bestimmungsmethoden verwendet.

Die Bestimmung der Erythrozyten- und Thrombozytenparameter findet in einer gemeinsamen Messkammer unter Einsatz der hydrodynamischen Fokussierung mittels Impedanzmessung statt. Dafür wird ein exakt definiertes, verdünntes Volumen der Probe in die Messkammer gespritzt und zu einer Kapillaröffnung gesaugt. Durch den Einsatz eines Mantelstroms, der die Zellen zylindrisch umhüllt, kann gewährleistet werden, dass alle Zellen besagte Kapillaröffnung einzeln und zentriert – also hydrodynamisch fokussiert – passieren. Zudem wird eine Rezirkulation der Zellen durch die Kapillaröffnung verhindert. Beim Durchtreten dieser Kapillaröffnung erzeugen die Zellen eine Änderung des elektrischen Widerstands (oder auch: der Impedanz), welche direkt proportional zur Größe der einzelnen Zellen ist. Diese Impedanzänderung wird registriert und ermöglicht neben der Erfassung der Anzahl an Erythrozyten und Thrombozyten sowie deren Größe auch die Errechnung des Hämatokrits. [151]

Die Leukozytenzahl wird in einem eigenen Messkanal mittels Durchflusszytometrie ermittelt. Zu diesem Zwecke werden zunächst alle Erythrozyten im Messansatz lysiert, sodass nur noch Leukozyten und Thrombozyten erhalten bleiben, welche sich in ihrer

Größe deutlich voneinander unterscheiden. Ähnlich der oben genannten Impedanzmessung werden die Zellen in einem Flüssigkeitsstrom in perlschnurartiger Aufreihung einem Messpunkt zugeführt. Im Unterschied zur Impedanzmessung kreuzen sie hier jedoch einen Lichtstrahl – das dabei entstehende Streulicht wird in verschiedenen Raumwinkeln ausgewertet und lässt Rückschlüsse auf Größe und Granularität der Leukozyten ziehen. [151, 152]

Zur Bestimmung des Gesamtgehalts an Hämoglobin (cave: der Gehalt an freiem Hämoglobin wurde separat und nach einem gänzlich anderen Verfahren bestimmt) wird ein Reagenz namens Sulfolyser eingesetzt, dessen wichtigster Bestandteil das Tensid Natriumlaurylsulfat (NLS) darstellt. Dieses Natriumlaurylsulfat löst zum einen die Zellmembranen sämtlicher zellulärer Bestandteile der Probe auf, wodurch das Hämoglobin aus den Erythrozyten freigesetzt wird. Zum anderen bindet es mit einer hydrophoben Gruppe an den Globinanteil des Hämoglobins und bewirkt so eine Konformitätsänderung dieses Moleküls. Dadurch wird die Bildung von Methämoglobin ermöglicht, welches durch die Oxidation des zweiwertigen Eisens der Hämgruppe entsteht. An das nun vorliegende dreiwertige Eisen des Methämoglobins können hydrophile Bestandteile des Natriumlaurylsulfats binden. Auf diese Weise entsteht ein stabiler Farbkomplex (NLS-Hb), der photometrisch bei einem Absorptionsmaximum von 555 nm registriert wird. [151]

3.4.2 Lösliche Parameter

3.4.2.1 Albumin, Gesamteiweiß und freies Hämoglobin

Um im Rahmen der Qualitätssicherung der Wundblutaufbereitung die Plasma-Parameter Albumin, Gesamteiweiß und freies Hämoglobin zu bestimmen, erfolgte zunächst bei Raumtemperatur für 10 Minuten eine Zentrifugation der Proben bei 2.000 g_n (Megafuge® 1.0 R, Heraeus Sepatech GmbH, Osterode, Deutschland). Der so entstandene Plasma-Überstand wurde in Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt und dann bei –20 °C eingefroren. Im Rahmen der Apherese-Versuche erfolgte keine Bestimmung der Albuminkonzen-

tration und auch die Zentrifugation verlief anders: Sie erfolgte diesmal für 15 Minuten bei 180 g_n. Die Bestimmung der genannten Parameter fand im Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg statt. Dabei wurden Gesamtprotein und Albumin photometrisch mit Hilfe des ADVIA® 1800 Analysesystems (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) ermittelt, während die Quantifizierung des freien Hämoglobins mittels Immunnephelometrie (BN ProSpec®, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) erfolgte.

Die Immunnephelometrie basiert auf der Wechselwirkung zwischen Antikörpern und nachzuweisendem Antigen. In diesem Falle werden Antikörper verwendet, die hochspezifisch an das extrazellulär gelegene, freie Hämoglobin binden und so zur Ausbildung von Antigen-Antikörper-Komplexen führen. Zur Quantifizierung werden Lichtstrahlen durch die Küvette geschickt, welche an den Komplexen gestreut werden. Das Streulicht wiederum wird durch ein Linsensystem auf einen Photodetektor fokussiert [153].

Für die photometrische Bestimmung des Gesamteiweißes kam die Biuret-Reaktion zum Einsatz. Sie basiert auf der Anlagerung von Kupfer(II)-Ionen an die Peptidbindungen der Proteine im alkalischen Milieu. Dabei kommt es zu einem Farbumschlag nach dunkelviolet, dessen Intensität sich linear zur Zahl der Peptidbindungen und damit der Masse an Protein verhält. Gemessen wird letztlich ein Anstieg der Absorption bei einer Wellenlänge von 546 nm [154].

Die Albuminkonzentration wurde unter Verwendung der Bromkresolgrün-Methode bestimmt. Unter Ausbildung eines blaugrünen Komplexes geht der Anionenfarbstoff Bromkresolgrün im leicht sauren Milieu eine recht spezifische Bindung mit Albumin ein. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Albuminkonzentration und wird photometrisch erfasst. Bekanntermaßen liefert diese Methode höhere Werte als die Immunturbidimetrie und die Immunnephelometrie. [155, 156]

3.4.2.2 Kalium

Die Kaliumkonzentration wurde mit einem Blutgasanalysegerät (GEM® Premier™ 3500, Instrumentation Laboratory Company, Bedford, MA, USA) ermittelt.

Primär wird hierbei potentiometrisch mittels einer ionenselektiven Elektrode die Ionenaktivität bestimmt, die dann geräteintern in die entsprechende Konzentration umgerechnet wird. Entscheidend bei dieser Messmethode ist eine ionenselektive Membran, die nur Kaliumionen den Durchtritt ermöglicht. Diese Membran trennt die Probenlösung von der Messlösung, dem sogenannten Innenelektrolyt, in welchen die innere Elektrode eintaucht. In Abhängigkeit von der Kaliumkonzentration der Probenlösung diffundiert Kalium unter Ausbildung eines Membranpotentials in den Innenelektrolyt. Dieses Membranpotential wird von der Innenelektrode registriert und gegen das konstante Potential der äußeren Referenzelektrode gemessen. [157-159]

3.4.2.3 Heparin

Die Bestimmung der Heparinkonzentration erfolgte im Analytiklabor der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Regensburg: Mittels eines chromogenen Tests (Berichrom® Heparin, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) wurde die Aktivität des Heparins im abzentrifugierten Plasma ermittelt.

Bei diesem Test wird zunächst durch die Zugabe von Dextransulfat dafür gesorgt, dass sich das zu bestimmende Heparin von etwaigen Störfaktoren löst und damit frei zugänglich vorliegt. Im zweiten Schritt wird die Probe mit einer definierten Menge Faktor Xa und einem Überschuss an Antithrombin III versehen. Das vorhandene Heparin katalysiert nun während einer exakt einzuhaltenden Inkubationsphase die Inaktivierung des Faktors Xa durch Antithrombin III. Im dritten Schritt folgt die Zugabe eines chromogenen Substrats, das mit dem verbliebenen Faktor Xa unter Ausbildung eines Farbstoffes reagiert. Dieser Farbstoff kann durch eine Extinktionszunahme bei 405 nm photometrisch bestimmt werden. [160]

Die Auswertung erfolgte anhand einer Bezugskurve, die mit dem verwendeten Heparin-Präparat (Heparin-Natrium 25000, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) und der gleichen Analysemethode erstellt wurde.

3.4.2.4 pH-Wert

Der pH-Wert der Proben wurde mit Hilfe eines Blutgasanalysegeräts (RAPIDLAB® 865, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) bestimmt, welches sich dazu einer Glaselektrodenkette bedient. Bei dieser Messmethode spielt die für H-Ionen sensitive Glasmembran eine wichtige Rolle. Diese Membran trennt die Probenlösung von der Messlösung, dem sogenannten Innenelektrolyt, in welchen die innere Elektrode eintaucht. Der Innenelektrolyt zeichnet sich dabei durch eine konstante H-Ionen-Aktivität aus. In Abhängigkeit von der H-Ionen-Konzentration der Probenlösung bildet sich an besagter Membran ein Potential aus, das von der Innenelektrode registriert und gegen das konstante Potential der äußeren Referenzelektrode gemessen wird. Dabei ändert sich die Potentialdifferenz bei 37 °C pro ganzzahlige pH-Einheit um 61,5 mV. [161]

3.4.3 Thrombozyten-Parameter

3.4.3.1 Größe und Volumen der Thrombozyten

Die Bestimmung des mittleren Plättchenvolumens (MPV = mean platelet volume) fand im Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg mit Hilfe des automatisierten Differential-Zellzählgerätes Sysmex XE-5000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) statt. Das hierbei verwendete Verfahren der Impedanzmessung bei hydrodynamischer Fokussierung (näheres dazu unter 3.4.1) eignet sich auch zur Erfassung der Anzahl an Thrombozyten. Da jedoch davon auszugehen war, dass sich diese in den Proben „buffy coat“ und „Plasma“ weit außerhalb des physiologischen Bereichs befand und um etwaige daraus resultierende Messungenauigkeiten zu vermeiden, erfolgte die Zählung der Thrombozyten bei diesen Proben lichtmikroskopisch mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer.

3.4.3.2 Morphologie der Thrombozyten

Einen orientierenden Überblick über den Grad der Aktivierung und der Schädigung der Thrombozyten gibt bereits eine lichtmikroskopische Auswertung des nach Pappenheim gefärbten Blutausstriches.

Die Aktivierung von Thrombozyten durch verschiedene diffusible Mediatoren führt zu einer charakteristischen Formänderung: Neu gebildete Aktinfilamente führen zur Ausbildung von Filopodien (auch als Pseudopodien bezeichnet), während aktomyosinbasierte kontraktile Prozesse eine Zentralisierung der sekretorischen Granula initiieren. Die Depolymerisation des für die thrombozytäre Plättchenform essentiellen, kreisförmigen Mikrotubulibandes bedingt schließlich den Übergang der Thrombozyten von ihrer typischen diskoiden in eine sphärische Form. [162]

Beschädigte Thrombozyten präsentieren sich unter dem Mikroskop als Fragmente oder stark geschwollene „Ballon-Thrombozyten“. Ursächlich für die Schwellung ist eine Schädigung der Membran der Thrombozyten, die ihrer Aufgabe nicht mehr nachkommen kann, einströmende Flüssigkeit wieder aus der Zelle heraus zu pumpen. [163, 164]

Zur Quantifizierung dieser morphologischen Veränderungen kam ein Scoring-System zum Einsatz, das am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg entwickelt wurde. Dieses System gliedert sich in drei Kategorien, in denen 0, 1, 2 oder 3 Punkte vergeben werden können. Zum Errechnen des Scores werden die Punkte aus den einzelnen Kategorien einfach addiert, sodass 0 bis 9 Punkte erreicht werden können. Zu beachten gilt hierbei, dass ein Wert von 0 Punkten den optimalen Zustand repräsentiert, während ein Wert von 9 Punkten den unphysiologischsten charakterisiert. Die Punkteverteilung erfolgte dabei gemäß Tabelle 3-2.

Tabelle 3-2. Scoring-System zur Beurteilung der Thrombozytenmorphologie

Thrombozytenaktivierung	
0 Punkte:	keine Auffälligkeiten, typische diskoide Form
1 Punkt:	geringgradige Podienbildung, Zentralisierung der Granula, diskoide Form
2 Punkte:	deutliche Podienbildung, Zentralisierung der Granula, vereinzelte Sphären
3 Punkte:	sphärische Form, Degranulation (Granulation nicht mehr erkennbar)
Thrombozytenfragmente	
0 Punkte:	keine Fragmente vorhanden
1 Punkt:	vereinzeltes Auftreten von Fragmenten (< 1 Fragment pro Gesichtsfeld)
2 Punkte:	deutliches Auftreten von Fragmenten (2 – 5 Fragmente pro Gesichtsfeld)
3 Punkte:	ausgeprägtes Auftreten von Fragmenten (> 10 Fragmente pro Gesichtsfeld)
Ballonierte Thrombozyten	
0 Punkte:	keine ballonierten Thrombozyten vorhanden
1 Punkt:	vereinzeltes Auftreten ballonierter Thrombozyten (< 1 pro Gesichtsfeld)
2 Punkte:	deutliches Auftreten ballonierter Thrombozyten (1 – 3 pro Gesichtsfeld)
3 Punkte:	ausgeprägtes Auftreten ballonierter Thrombozyten (> 4 pro Gesichtsfeld)

3.4.3.3 Vitalität der Thrombozyten – hypotonic shock response

Setzt man Thrombozyten durch die Zugabe von Wasser einem hypotonen Stress aus, so schwellen diese zunächst an – bedingt durch den Einstrom des hypotonen Wassers in die Zellen. Dieses Anschwellen der Thrombozyten führt zu einer Abnahme ihres Brechungsindex und einer Zunahme der Lichttransmission. In Abhängigkeit ihrer jeweiligen Regenerationsfähigkeit gelingt es einem gewissen Prozentsatz der Thrombozyten, das eingeströmte Wasser innerhalb von Minuten wieder aus der Zelle zu befördern und somit auf ihr ursprüngliches Volumen zu schrumpfen. Daraus resultiert eine Zunahme des Brechungsindex und eine Abnahme der Lichttransmission. Betrachtet man nun die endgültige Transmission – also nach Zugabe von Wasser und 10 Minuten Wartezeit – im Verhältnis zur Transmission in isotoner Lösung, so kann man daraus auf das Ausmaß der Regenerationsfähigkeit der getesteten Thrombozyten schließen. [165, 166]

Die Bestimmung dieser sogenannten hypotonic shock response (HSR) erfolgte bei 37 °C in einem Zweistrahl-Spektralphotometer (DU® 640 Spectrophotometer, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA). Das folgende Procedere sollte dabei für alle Testläufe möglichst vergleichbare Ausgangsbedingungen schaffen:

Zunächst durchliefen die zu testenden Proben bei Raumtemperatur eine 15-minütige Zentrifugation bei 180 g_n. Der dabei entstandene Überstand bestand aus plättchenreichem Plasma (PRP = platelet-rich plasma – cave: die Handbücher der MAT-Geräte definieren dies anders), von dem etwa 2 ml abpipettiert wurden. Durch anschließende zehnminütige Zentrifugation bei 3.000 g_n unter Raumtemperatur bildete sich ein Überstand aus, der mit einer durchschnittlichen Konzentration von weniger als 5.000 Thrombozyten/μl als plättchenarmes Plasma (PPP = platelet-poor plasma) bezeichnet werden konnte (cave: die Handbücher der MAT-Geräte definieren dies anders). Bei jedem dieser Plasmen erfolgte eine lichtmikroskopische Bestimmung der Thrombozytenkonzentration in der Neubauer-Zählkammer. Auf Basis dieser Auszählung wurde das plättchenreiche Plasma durch Zugabe eines jeweils geeigneten Volumens plättchenarmen Plasmas auf eine Thrombozytenkonzentration von 200.000 Zellen/μl eingestellt (mPRP = mixed platelet-rich plasma).

Zur Kalibrierung des Photometers auf den Nullwert wurden zwei Küvetten mit einem Gemisch aus je 400 μl des plättchenarmen Plasmas und 200 μl isotoner Kochsalzlösung in die Strahlengänge des Mess- und des Vergleichsstrahls gebracht. Auf diese Kalibrierung folgte eine Referenzmessung mit einer Küvette, die neben 400 μl plättchenreichem Plasma zusätzlich 200 μl isotone Kochsalzlösung enthielt. Dazu erfolgte 10 Minuten lang alle 30 Sekunden bei einer Wellenlänge von 610 nm eine vergleichende Messung zwischen der Extinktion des Messstrahls, in dem sich nun das plättchenreiche Plasma befand, und dem Vergleichsstrahl, der durch das plättchenarme Plasma fiel. Auf dieselbe Weise fand anschließend die Registrierung jener Extinktionsänderungen statt, welche die Zugabe von 200 μl Wasser zu 400 μl plättchenreichem Plasma hervorrief. Die Messung begann dabei unmittelbar nach Zugabe des Wassers in die Küvette.

3.4.3.4 Funktionalität der Thrombozyten – Aggregometrie

Die Aggregometrie nach Born ermöglicht es, anhand der Fähigkeit der Thrombozyten zur Aggregation und Agglutination, eine Aussage über deren Funktionalität zu treffen. Zum Einsatz kam das Plättchenaggregometer APACK (Automated Platelet and Coagulation Tracer, LABiTec Labor BioMedical Technologies GmbH, Ahrensburg, Deutschland), welches das 1962 von Born beschriebene turbidimetrische Messverfahren verwendet. Abbildung 3-6 gibt einen schematischen Überblick über den Aufbau der Messkammer dieses Apparates.

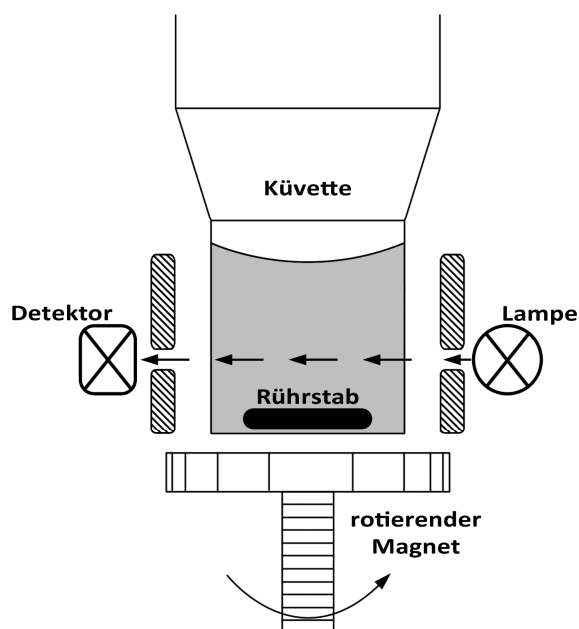


Abbildung 3-6. Schematischer Aufbau der APACK-Messkammer. Skizziert nach einer Abbildung aus [167]. Thrombozytenreiches Plasma (grau dargestellt) weist eine außerordentlich geringe Durchlässigkeit für das langwellige Licht der Lampe auf, während thrombozytenfreies Plasma dieses Licht nahezu ungehindert passieren lässt. Ebenso steigt die Durchlässigkeit des Plasmas mit zunehmender Aggregation der Thrombozyten. Daher ist es möglich, die durch den Detektor erfasste prozentuale Lichtdurchlässigkeit der Probenflüssigkeit als Maß für die Aggregation der enthaltenen Thrombozyten zu verwenden. [167]

Bei der Aggregometrie nach Born wird der zu testenden Thrombozytensuspension unter ständigem Rühren ein Plättchenagonist wie Adenosindiphosphat (ADP) oder Kollagen beigemischt. Bedingt durch diese Agenzien erfolgt eine Aktivierung der Thrombozyten, die zu einer Bindung von Fibrinogen an den GPIIb/IIIa-Komplex und damit zur Aggregation führt. Alternativ kann statt der Plättchenagonisten auch das Antibiotikum Ristocetin oder das aus Schlangengift gewonnene Botrocetin verwendet werden. Dadurch kommt es zu keiner Plättchenaktivierung im eigentlichen Sinne, sondern zu einer Bin-

dung des Willebrand-Faktors an den GPIIb/IX-Komplex. Die daraus resultierende Plättchenagglutination ist begrifflich von der oben genannten -aggregation abzugrenzen, obgleich der Effekt mikro- und makroskopisch der gleiche ist: Es bilden sich Plättchenagglomerate, die sich verglichen mit einzelnen Plättchen unter anderem durch eine geringere Lichtstreuung auszeichnen. Die daraus resultierende Zunahme der Lichttransmission wird vom Plättchenaggregometer über eine gewisse Zeit erfasst und als Aggregationskurve ausgegeben. [168, 169]

Zur Kalibrierung der Messung wurde – wie bereits unter 3.4.3.3 beschrieben – aus jeder Probe plättchenreiches Plasma mit konstant 200.000 Thrombozyten/ μ l und plättchenarmes Plasma mit weniger als 5.000 Thrombozyten/ μ l gewonnen. Dieses plättchenreiche Plasma diente bei jeder Messung als Referenzwert für 0 % Transmission, während das plättchenarme Plasma die Referenz für 100 % Transmission – entsprechend vollständiger Koagulation/Agglutination aller Thrombozyten – darstellte.

Als Induktor der Plättchenagglutination diente Ristocetin (Haemochrom Diagnostica GmbH, Essen, Deutschland) in einer Konzentration von 1 μ g/ml. In die Auswertung ging jeweils das innerhalb einer Messzeit von 12 Minuten erreichte Plateau der maximalen Agglomeration ein.

3.4.3.5 Aktivierung der Thrombozyten – β -Thromboglobulin

Das thrombozytenspezifische Protein β -Thromboglobulin stammt ursprünglich aus den Megakaryozyten des Knochenmarks, in denen es synthetisiert wird. Im Inneren der Thrombozyten – die allesamt von Megakaryozyten hervorgebracht werden – liegt es dann gespeichert in den α -Granula vor [170]. Eine Aktivierung der Thrombozyten (beispielsweise durch ADP, Thrombin oder den Kontakt mit künstlichen Oberflächen) bewirkt eine Sekretion der α -Granula und damit auch die Freisetzung des β -Thromboglobulins [170]. Die Konzentration an β -Thromboglobulin im Plasma kann daher als Parameter für das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung verwendet werden.

Zur Bestimmung der β -Thromboglobulin-Konzentration kam der enzymgekoppelte Immunadsorptionstest (ELISA = enzyme-linked immuno sorbent assay) Asserachrom® β -TG (Diagnostica Stago, Asnieres, Frankreich) zum Einsatz. Die photometrische Auswertung erfolgte am Plattenlesegerät Varioskan® Flash 2.4.3 (Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Finnland).

Dieser Test basiert prinzipiell auf drei Schritten:

Im ersten Schritt werden die Proben in die Vertiefungen eines Kunststoffträgers pipettiert, der mit $F(ab')_2$ -Fragmenten von Kaninchenantikörpern gegen humanes β -Thromboglobulin beschichtet ist. Diese Antikörper fixieren das Antigen β -Thromboglobulin an den Kunststoffträger, während die Proben durch fünfmaliges Waschen ausgespült werden. [171]

Als zweiter Schritt folgt die Zugabe einer Lösung, die wiederum Kaninchenantikörper gegen humanes β -Thromboglobulin enthält. Diese Antikörper sind jedoch zusätzlich an eine Peroxidase gekoppelt. Auch diesmal wird durch fünfmaliges Auswaschen sichergestellt, dass die Probenvertiefungen lediglich gebundene Antigen-Antikörper-Komplexe enthalten. [171]

Mit der Zugabe des Tetramethylbenzidin-Reagenzes erfolgt im dritten Schritt die zu messende Farbreaktion [171]. Die oben genannte, an Antikörper gekoppelte Peroxidase überträgt durch Oxidation von Tetramethylbenzidin-Dihydrochlorid ($TMBH_2$; farblos) je zwei Elektronen auf ein Molekül Wasserstoffperoxid (H_2O_2), sodass als Reaktionsprodukt je zwei Moleküle Wasser (H_2O) und ein Molekül Tetramethylbenzidin (TMB; blau) entstehen [172, 173]. Die dabei entstehende charakteristische blaue Farbe schlägt nach Abstoppen der Reaktion mit einmolarer Schwefelsäure ins Gelbe um und korreliert mit der ursprünglichen Konzentration an β -Thromboglobulin im Medium [153, 171, 173]. Zur Auswertung kann photometrisch bei 450 nm eine Zunahme der Extinktion registriert werden [171]. Als Referenz dient dabei eine Kalibrationsreihe, die nach dem oben genannten Verfahren auf Grundlage einer β -Thromboglobulin-Lösung bekannter Konzentration erstellt wird [171].

3.4.3.6 Aktivierung der Thrombozyten – lösliches P-Selektin

P-Selektin (auch: PADGEM = platelet activation dependent granule external membrane protein, GMP140 = granule membrane protein 140, SELP = Selektin P oder CD62P = cluster of differentiation 62 P) ist ein Transmembranprotein, das sich in den Membranen der thrombozytären α -Granula und in denen der Weibel-Palade-Körperchen der Endothelzellen findet [170, 174]. Bei einer Aktivierung der Thrombozyten verschmilzt im Rahmen der Exozytose die Granulamembran mit der Thrombozytenmembran, wodurch das P-Selektin an die Plättchenoberfläche gelangt [170]. Dort ist es allerdings nur für wenige Minuten nachweisbar, bevor es von den Thrombozyten vermutlich wieder ins Zellinnere befördert wird [175]. Zusätzlich zu dieser membranständigen Form existiert aber auch eine lösliche P-Selektin-Variante (sP-Selektin), welcher offenbar die zur Verankerung nötige Transmembrandomäne fehlt [176-179]. Diese lösliche Variante findet sich zwar auch im Blut gesunder Probanden [180-183], unterschiedlichste Stimuli wie die Zugabe von Thrombin [180] oder Wechselwirkungen mit künstlichen Oberflächen [182] führen jedoch zu einer signifikanten Erhöhung der Konzentration an löslichem P-Selektin. Im Gegensatz zum oben genannten β -Thromboglobulin scheint das sP-Selektin relativ unempfindlich gegenüber verschiedenen Methoden der Antikoagulation und der Probengewinnung (wie zum Beispiel unterschiedlichen Zentrifugationsgeschwindigkeiten) zu sein [181]. Zudem zeigen die Plasmakonzentrationen von β -Thromboglobulin und sP-Selektin teilweise keine besonders enge Korrelation [184], was die Vermutung nährt, dass diese beiden Substanzen Indikatoren unterschiedlicher physiologischer Aspekte der Thrombozytenaktivierung darstellen [181].

Zur Konzentrationsbestimmung des löslichen P-Selektins fand – wie auch bei der Bestimmung des β -Thromboglobulins – ein enzymgekoppelter Immunadsorptionstest Verwendung (Human sP-Selectin/CD62P ELISA Kit, R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA). Die photometrische Auswertung erfolgte am Plattenlesegerät Varioskan® Flash 2.4.3 (Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Finnland).

Im Prinzip basiert dieser Test auf drei Schritten:

Zunächst werden die Proben in die Näpfchen einer Mikrotiterplatte pipettiert, deren Oberfläche mit monoklonalen Mausantikörpern gegen humanes sP-Selektin überzogen ist [185]. Diese Antikörper binden hochspezifisch an das lösliche P-Selektin und fixieren es somit an der Oberfläche der Platte [153].

Ohne die Proben vorher auszuwaschen wird im nächsten Schritt eine Lösung in die Näpfchen gegeben, die polyklonale Schafsantikörper gegen sP-Selektin enthält [185]. Diese Antikörper sind an das Enzym Meerrettich-Peroxidase gekoppelt [185]. Nach einstündiger Inkubation bei Raumtemperatur erfolgt eine dreifache Auswaschung der Näpfchen [185]. Dadurch werden all jene Antikörper ausgespült, welche nicht an sP-Selektin gekoppelt sind. [153]

Mit der anschließenden Zugabe des Tetramethylbenzidin-Reagenzes erfolgt die zu messende Farbreaktion [185]. Die oben genannte, an Schafsantikörper gekoppelte Meerrettich-Peroxidase überträgt durch Oxidation von Tetramethylbenzidin-Dihydrochlorid (TMBH_2 ; farblos) je zwei Elektronen auf ein Molekül Wasserstoffperoxid (H_2O_2), sodass als Reaktionsprodukt je zwei Moleküle Wasser (H_2O) und ein Molekül Tetramethylbenzidin (TMB; blau) entstehen [172, 173].

Die nachfolgende Zugabe der säurehaltigen Stopp-Lösung bedingt einen Farbumschlag ins Gelbe [173]. Anschließend erfolgt die photometrische Auswertung der einzelnen Proben bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Wellenlängenkorrektur bei 650 nm [185]. Die Intensität der Farbreaktion korreliert dabei mit der Konzentration an sP-Selektin [153]. Als Referenz dient eine Kalibrationsreihe, die nach dem oben genannten Verfahren auf Grundlage einer sP-Selektin-Lösung bekannter Konzentration erstellt wird [185].

3.5 Statistik

Die Verwaltung der Studiendaten erfolgte mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft® Excel® 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA), während das Statistikprogramm SPSS® Statistics 17.0 (International Business Machines Corporation, Armonk, NY, USA) für deren statistische Auswertung zum Einsatz kam. Die deskriptive Statistik der quantitativen Variablen basierte auf den Kenngrößen Mittelwert und Standardabweichung. Für den nichtparametrischen Vergleich jeweils zweier unverbundener Stichproben kam der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung. Die Darstellung des Signifikanzniveaus erfolgte durch den P-Wert: $0,05 > P \geq 0,01$ wurde als signifikant, $P < 0,01$ als hochsignifikant und $P \geq 0,05$ als nicht signifikant interpretiert.

4 Ergebnisse

4.1 Maschinelle Aufbereitung von Erythrozyten

4.1.1 Verarbeitungszeit

Bei der Ermittlung der Verarbeitungszeit wurde mit Hilfe einer Stoppuhr die Zeitspanne zwischen dem Start des jeweiligen Programms und dem Stoppen der Rollerpumpe am Ende der Leer-Phase bestimmt. Insgesamt zeichneten sich die Ergebnisse der ermittelten Verarbeitungszeiten durch derart geringe Schwankungsbreiten aus, dass sich die meisten Unterschiede bei statistischer Testung als hochsignifikant erwiesen. Eine übersichtliche Darstellung der verschiedenen Verarbeitungszeiten bietet Abbildung 4-1.

Testblut „Cardio“

Bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) lag die so gemessene Zeitspanne im Standardprogramm „Pstd“ zwischen 4:07 min (225-ml-Glocke = BT225) und 6:24 min (125-ml-Glocke = BT125). Dabei nahm die Verarbeitungszeit mit steigender Glockengröße ab – mit Ausnahme der 55-ml-Glocke (= BT55), die mit durchschnittlich 5:11 min weniger Zeit benötigte als die 125- und die 175-ml-Glocke (= BT175), welche jeweils eine mittlere Verarbeitungszeit von 6:42 min bzw. 5:43 min aufwiesen. Die relativen Standardabweichungen der im Standardprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut ermittelten Verarbeitungszeiten lagen für die Glocken BT55, BT125 und BT175 bei 0,8 %, 0,7 % und 0,6 %. In der 225-ml-Glocke fiel der Variationskoeffizient mit 1,9 % etwas höher aus.

Ein Wechsel auf das Programm Popt führte bei den Glocken BT125 und BT175 zu einer hochsignifikanten Abnahme der Verarbeitungszeit um 6,6 % (25 Sekunden) bzw. 13,4 % (46 Sekunden) auf durchschnittlich 5:59 bzw. 4:57 min. Demgegenüber brachte ein

Wechsel von Pstd auf Popt bei der Glocke BT55 mit $P = 0,690$ keine signifikante Veränderung und bei der Glocke BT225 einen mit $P = 0,008$ hochsignifikanten Anstieg der Verarbeitungszeit um 36,9 % (1:31 min) auf 4:07 min. Im Gegensatz zum Standardprogramm sank die Verarbeitungszeit im Popt-Modus bei Verwendung von „Cardio“-Testblut also nicht mit zunehmender Glockengröße. Mit relativen Standardabweichungen zwischen 0,6 und 2,3 % (BT125 bzw. BT225) lag die Schwankungsbreite der Verarbeitungszeiten im Programm Popt bei den Glocken BT55, BT175 und BT225 etwas höher als im Standardprogramm.

Das Notfallprogramm „Pem“ verkürzte unter Verwendung von „Cardio“-Testblut die Verarbeitungszeit gegenüber dem Standardprogramm für die Glocke BT125 um 3:57 min auf 38 % (2:27 min), für die Glocke BT175 um 2:45 min auf 52 % (2:58 min) und für die Glocke BT55 um 2:57 min auf 43 % (2:14 min) des Ausgangswertes. Bei der 225-ml-Glocke fiel dieser Unterschied mit durchschnittlich 44 Sekunden deutlich geringer aus und brachte lediglich eine Verkürzung der Verarbeitungszeit auf 82 % (3:23 min) der im Standardprogramm benötigten Zeit. Dennoch war auch dieser Unterschied hochsignifikant. Die Verarbeitungszeit stieg im Notfallprogramm von 2:14 min (55-ml-Glocke) mit zunehmender Glockengröße kontinuierlich bis auf einen Durchschnittswert von 3:23 min (225-ml-Glocke). Mit Werten zwischen 0,9 und 2,5 % (BT175 bzw. BT55) lagen die relativen Standardabweichungen der Verarbeitungszeiten im Notfallprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut stets über jenen des Standardprogramms.

Testblut „Ortho“

Die Versuche mit „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) zeigten bei den Unterschieden zwischen den verschiedenen Glockengrößen und Programmen enge Parallelen zu den Ergebnissen, welche mit „Cardio“-Testblut gewonnen wurden – auch wenn die ermittelten Verarbeitungszeiten mit „Ortho“-Testblut stets hochsignifikant höher lagen als bei den entsprechenden Versuchen mit „Cardio“-Testblut.

Im Standardprogramm lagen die Verarbeitungszeiten im Vergleich zu den mit „Cardio“-Testblut erzielten Ergebnissen deutlich höher. So stieg die Verarbeitungszeit in

der 125-ml-Glocke um 24,6 % (1:34 min) auf 7:58 min, in der 175-ml-Glocke um 29,5 % (1:42 min) auf 7:25 min, in der 225-ml-Glocke um 59,8 % (2:28 min) auf 6:35 min und in der 55-ml-Glocke lediglich um 15,4 % (48 Sekunden) auf 5:59 min. Wie bereits beim „Cardio“-Testblut zu beobachten, nahm die Verarbeitungszeit mit steigender Glockengröße ab, wovon jedoch wiederum die 55-ml-Glocke ausgenommen blieb. Die relativen Standardabweichungen der Verarbeitungszeiten des Standardprogramms lagen bei Verwendung von „Ortho“-Testblut mit Werten zwischen 1,3 und 3,1 % stets deutlich höher als in den Versuchen mit „Cardio“-Testblut. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen im Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut ergaben sich hinsichtlich der Verarbeitungszeit stets hochsignifikante ($P = 0,008$) Differenzen.

Mit „Ortho“-Testblut stieg die Verarbeitungszeit des Programms Popt gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut in den Glocken BT55 und BT125 um 18,0 bzw. 19,4 % (55 bzw. 69 Sekunden) an, während in den Glocken BT175 und BT225 sogar Steigerungen um 27,6 bzw. 46,6 % (1:23 bzw. 2:38 min) auszumachen waren. Im Vergleich mit dem Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut zeigte sich nur bei der 125-ml-Glocke eine hochsignifikante Abnahme der Verarbeitungszeit um 10,5 % (50 Sekunden) auf durchschnittlich 7:08 min, während die Zeitersparnis bei der 175-ml-Glocke zwar mit 14,7 % (1:05 min) stärker ausgeprägt war und zu einem Mittelwert von 6:20 min führte, jedoch mit $P = 0,056$ das Signifikanzniveau knapp verfehlte. Wie bereits bei den Versuchen mit „Cardio“-Testblut zu beobachten, kam es in der 225-ml-Glocke zu einer deutlichen und hochsignifikanten Zunahme der Verarbeitungszeit, die in diesem Falle 1:41 min (25,5 %) betrug, was einen Mittelwert von 8:16 min ergab. Die Erhöhung der Verarbeitungszeit gegenüber dem Standardprogramm um 1,9 % (6 Sekunden) auf 6:05 min, welche bei der 55-ml-Glocke zu beobachten war, zeigte mit $P = 0,247$ keine Signifikanz. Eine mit der Glockengröße korrelierte Abnahme der Verarbeitungszeit im Popt-Modus konnte somit auch für „Ortho“-Testblut nicht festgestellt werden. Für die Glocken BT55, BT125 und BT225 wurden relative Standardabweichungen der Verarbeitungszeit von 2,4 bis 2,8 % (BT225 bzw. BT55) ermittelt. In der 175-ml-Glocke ergab sich durch die Abweichung eines einzelnen Messwertes eine mit 10,1 % deutlich höhere relati-

ve Standardabweichung. Vergleich man im Programm Popt unter Verwendung von „Ortho“ Testblut die verschiedenen Glockengrößen miteinander hinsichtlich der Verarbeitungszeit, so unterschied sich die 175-ml-Glocke weder signifikant von der 55-ml-Glocke, noch von der 225-ml-Glocke ($P = 0,931$ bzw. $0,151$), während die anderen Kombinationen an Glockengrößen allesamt hochsignifikante Differenzen aufzuweisen hatten.

Die Differenzen der Verarbeitungszeiten des Notfallprogramms zwischen der Verwendung von „Ortho“- und „Cardio“-Testblut nahmen bei steigender Glockengröße kontinuierlich zu: von 25,2 % (33 Sekunden) in der 55-ml-Glocke über 35,7 bzw. 40,4 % (52 bzw. 72 Sekunden) in den Glocken BT125 und BT175 bis hin zu 49,9 % (1:42 min) in der 225-ml-Glocke. Das Notfallprogramm führte im Vergleich mit dem Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut zu einer erheblichen Verkürzung der Verarbeitungszeit. So sank diese mit der 125-ml-Glocke um 4:39 min auf 42 % (3:19 min), mit der 175-ml-Glocke um 3:15 min auf 56 % (4:10 min) und mit der 55-ml-Glocke um 3:12 min auf 47 % (2:47 min) des Ausgangswertes. Bei der 225-ml-Glocke verkürzte das Notfallprogramm die Verarbeitungszeit weniger stark um 1:30 min auf 77 % (5:05 min) der im Standardprogramm benötigten Zeit. Was den Unterschied zwischen den Programmen Pstd und Pem anbelangt, verfehlte die Glocke BT225 mit $P = 0,041$ als einzige das Hochsignifikanzniveau von 0,01. Die relativen Standardabweichungen der Verarbeitungszeit lagen zwischen 1,7 und 3,3 % (BT175 bzw. BT125). Ein Vergleich der verschiedenen Glockengrößen im Notfallprogramm unter Einsatz von „Ortho“-Testblut ergab für größere Glocken stets hochsignifikant ($P = 0,008$) höhere Verarbeitungszeiten.

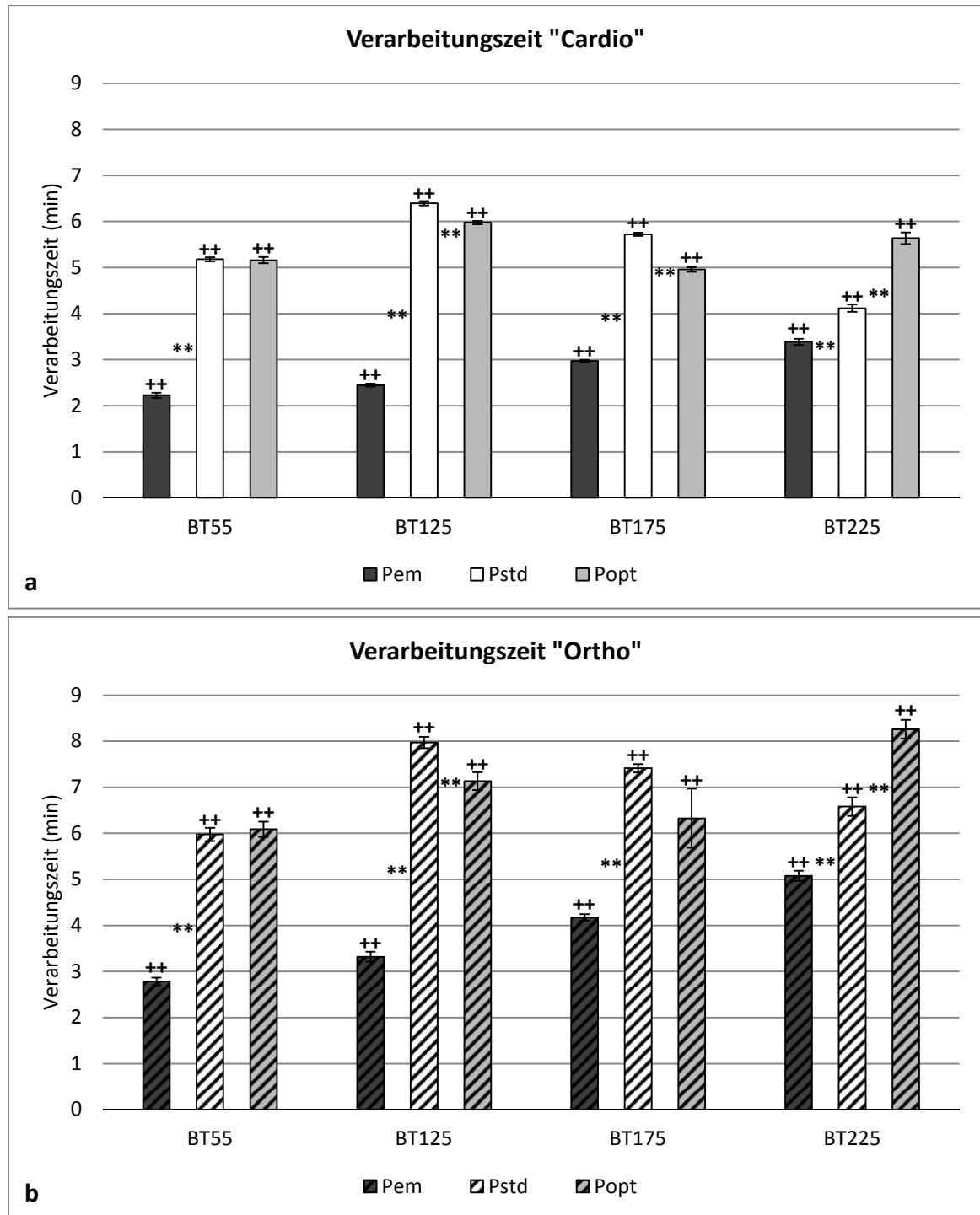


Abbildung 4-1. Verarbeitungszeit. Zeitspanne vom Start des Programms bis zum Stoppen der Rollerpumpe – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.2 Erythrozytenproduktion

Aus dem Volumen der im produzierten Erythrozytenkonzentrat enthaltenen Erythrozyten und der Verarbeitungszeit wurde die sogenannte „Erythrozytenproduktion“ – angegeben in Milliliter Erythrozyten pro Minute – berechnet. Diese stieg – unabhängig von der Art des verwendeten Testblutes und des gewählten Verarbeitungsprogrammes – stets mit steigender Glockengröße an, wie auch aus Abbildung 4-2 ersichtlich wird.

Testblut „Cardio“

Bei der Versuchsdurchführung mit „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) stieg die Erythrozytenproduktion im Standardprogramm hochsignifikant von 6,4 ml mit der 55-ml-Glocke über 10,6 und 14,9 ml mit den Glocken BT125 bzw. BT175 auf 29,8 ml mit der 225-ml-Glocke.

Ein Wechsel in das Programm Popt führte bei der 125-ml-Glocke zu einer hochsignifikanten Zunahme der Erythrozytenproduktion um 9,3 % (1,0 ml/min) auf 11,6 ml/min. In den Glocken BT175 und BT55 kam es ebenfalls zu einem hochsignifikanten Anstieg der Erythrozytenproduktion, im Einzelnen um 20,6 bzw. 14,1 % (3,1 bzw. 0,9 ml/min) auf 18,0 bzw. 7,3 ml/min. Demgegenüber führte ein Wechsel von Pstd auf Popt mit der 225-ml-Glocke statt zu einer Zunahme zu einer hochsignifikanten ($P = 0,008$) Abnahme der Erythrozytenproduktion um 16,3 % (4,9 ml/min) auf 24,9 ml/min. Die geringste Schwankungsbreite im Popt-Modus bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut zeigte die Glocke BT125 mit einer relativen Standardabweichung von 0,65 % – die höchste die Glocke BT55 mit 4,25 %. Hinsichtlich der verschiedenen Glockengrößen zeigten sich für die Erythrozytenproduktion auch im Programm Popt stets hochsignifikante Unterschiede.

Wurde statt des Standardprogramms das Notfallprogramm gestartet, so war für die Glocke BT125 eine hochsignifikante ($P = 0,008$) Zunahme der Erythrozytenproduktion um 133,1 % (14,2 ml/min) auf 24,8 ml/min zu verzeichnen. Auch für die Glocken BT175 und BT55 war ein deutlicher und hochsignifikanter Anstieg zu verzeichnen, der 87,2 bzw. 123,1 % (13,0 bzw. 7,9 ml/min) betrug und somit zu einer Erythrozytenproduktion von

27,9 bzw. 14,3 ml/min führte. Stattdessen kam es bei der 225-ml-Glocke zu einer minimalen Abnahme der Erythrozytenproduktion um 2,2 % (0,7 ml/min) auf 29,1 ml/min. Bei einer Standardabweichung von 1,1 bzw. 1,2 ml/min in den Programmen Pstd und Pem war dieser Unterschied mit $P = 0,690$ jedoch nicht signifikant. Generell lag die relative Standardabweichung im Notfallprogramm mit „Cardio“-Testblut zwischen 1,9 und 4,3 %, wobei die Glocke BT55 den kleinsten und die Glocke BT125 den größten Variationskoeffizienten aufwies. Der Umfang der Erythrozytenproduktion im Notfallprogramm unter der Verwendung von „Cardio“-Testblut unterschied sich bei den Glocken BT175 und BT225 nicht signifikant ($P = 0,095$), während die restlichen Glocken untereinander stets hochsignifikante Unterschiede aufwiesen.

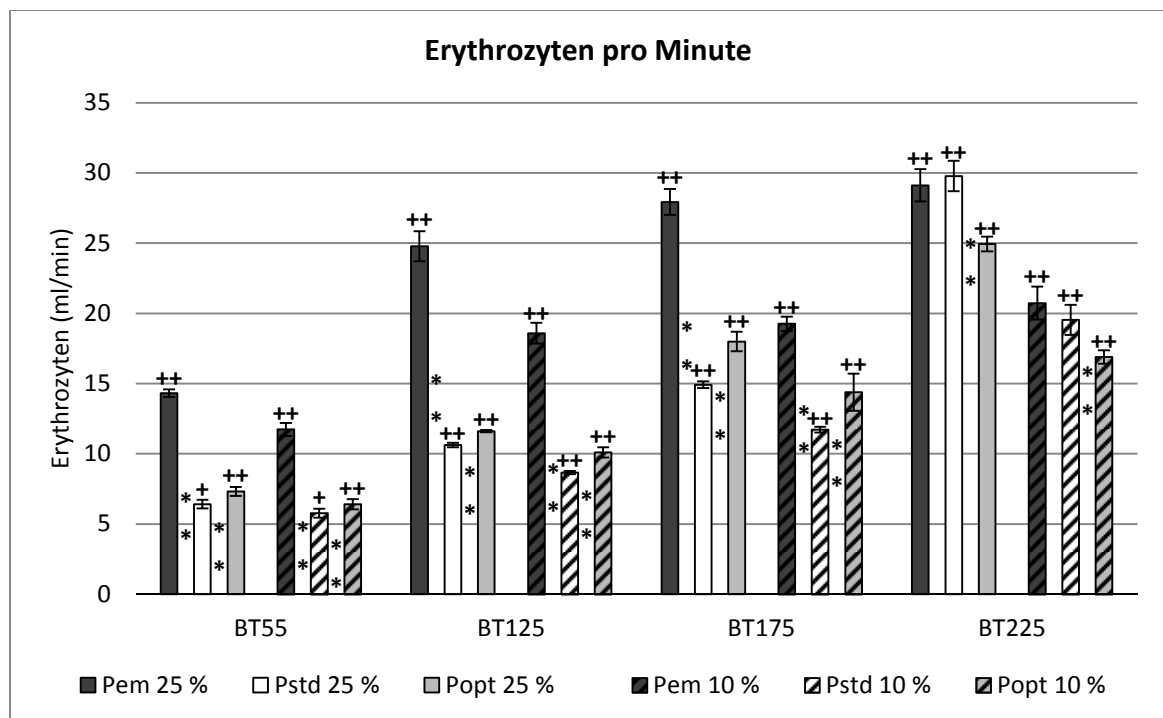


Abbildung 4-2. Erythrozytenproduktion. Definiert als das Volumen an Erythrozyten, welches pro Minute in das erzeugte Erythrozytenkonzentrat überführt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225), gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit) und Testblut („Cardio“ mit 25 % Hämatokrit oder „Ortho“ mit 10 %). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts.

Testblut „Ortho“

Die Ergebnisse der Versuchsreihe mit „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) zeigten, was die Unterschiede zwischen den verschiedenen Glockengrößen und Programmen anbelangt, enge Parallelen zu den Ergebnissen der Testläufe mit „Cardio“-Testblut. Dabei lag die Erythrozytenproduktion mit „Ortho“-Testblut mit nur einer Ausnahme hochsignifikant niedriger als in den entsprechenden Versuchen mit „Cardio“-Testblut. Besagte Ausnahme bildete die Glocke BT55, deren Erythrozytenproduktion mit „Ortho“-Testblut im Standardmodus mit $P = 0,016$ nur signifikant niedriger war als mit „Cardio“-Testblut.

Mit der 125-ml-Glocke sank die Erythrozytenproduktion im Standardprogramm im Vergleich zu jener unter Verwendung von „Cardio“-Testblut um 18,5 % (2,0 ml/min) auf durchschnittlich 8,7 ml/min. Ebenso sank die Erythrozytenproduktion der 175-ml-Glocke um 21,5 % (3,2 ml/min) auf 11,7 ml/min, während sie in der 225-ml-Glocke um 34,4 % (10,2 ml/min) und in der 55-ml-Glocke lediglich um 10,0 % (0,6 ml/min) abnahm, was zu einer mittleren Erythrozytenproduktion von 19,5 bzw. 5,8 ml/min führte. Basierend auf „Ortho“-Testblut wiesen die Glocken BT125 und BT175 im Standardprogramm mit relativen Standardabweichungen von 1,3 bzw. 1,7 % eine deutlich geringere Schwankungsbreite auf als die Glocken BT55 und BT225 mit 5,6 bzw. 5,5 %. Die einzelnen Glockengrößen wiesen im Standardprogramm bei der Verwendung von „Ortho“-Testblut untereinander stets hochsignifikante Unterschiede in der Erythrozytenproduktion auf.

Bei Verwendung von „Ortho“-Testblut wurden im Programm Popt in Abhängigkeit von der Glockengröße Erythrozytenproduktionsraten erreicht, die 12,3 bis 32,3 % (1,5 bis 3,6 ml/min) niedriger lagen als bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut. Die Abnahme der Produktionsrate der 125-ml-Glocke lag mit 13,0 % (1,5 ml/min) deutlich näher an den 12,3 % der 55-ml-Glocke als an den 20,0 % der 175-ml-Glocke. Verglichen mit dem Programm Pstd unter Einsatz von „Ortho“-Testblut erreichte das Programm Popt stets hochsignifikante Differenzen in der Erythrozytenproduktion: Bei Verwendung der 125-ml-Glocke stieg diese um 16,7 % (1,4 ml/min) auf durchschnittlich 10,1 ml/min, mit der 175-ml-Glocke um 22,9 % (2,7 ml/min) auf 14,4 ml/min und mit der 55-ml-Glocke um 11,1 % (0,6 ml/min) auf 6,4 ml/min. Wie auch bei den Versuchen mit „Cardio“-

Testblut zeigte die 225-ml-Glocke gegenüber dem Standardprogramm im Popt-Modus eine hochsignifikante Abnahme der Erythrozytenproduktion, die sich in diesem Falle auf 13,5 % (2,6 ml/min) belief und damit einen Durchschnittswert von 16,9 ml/min ergab. Mit Werten zwischen 2,9 und 9,2 % (BT225 bzw. BT175) lag die relative Standardabweichung für das Programm Popt höher als im Standardprogramm. Dabei erwiesen sich die Unterschiede zwischen den verschiedenen Glockengrößen im Popt-Modus bei der Verwendung von „Ortho“-Testblut wiederum stets als hochsignifikant.

Im Notfallprogramm lag die Erythrozytenproduktion unter Verwendung des Testbluts „Ortho“ zwischen 18,0 und 31,1 % (2,6 bzw. 8,7 ml/min) niedriger als beim Einsatz von „Cardio“-Testblut. Die geringste Abnahme war dabei mit 18,0 % in der 55-ml-Glocke zu verzeichnen, während die 175-ml-Glocke mit 31,1 % die höchste vorzuweisen hatte. Das Mittelfeld bildeten die Glocken BT125 und BT225 mit Verringerungen der Erythrozytenproduktionsraten um 25,0 bzw. 28,8 % (6,2 bzw. 8,4 ml/min) gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut. Vergleich man die Programme Pem und Pstd bei der Verwendung von „Ortho“-Testblut miteinander, so führte ein Wechsel in das Notfallprogramm bei der 125-ml-Glocke zu einer hochsignifikanten ($P = 0,008$) Zunahme der Erythrozytenproduktion um 114,6 % (9,9 ml/min) auf einen Mittelwert von 18,6 ml/min. Ebenso konnte in den Glocken BT175 und BT55 eine hochsignifikante Erhöhung der Erythrozytenproduktion um 64,4 bzw. 103,3 % (7,5 bzw. 6,0 ml/min) auf 19,3 bzw. 11,7 ml/min beobachtet werden. Dagegen war die geringfügige Steigerung der Erythrozytenproduktion um 6,1 % (1,1 ml/min) auf 20,7 ml/min, welche sich bei Verwendung der 225-ml-Glocke zeigte, mit $P = 0,222$ als statistisch nicht signifikant einzustufen. Mit 5,6 % zeigte die 225-ml-Glocke zudem die höchste relative Standardabweichung, während die 175-ml-Glocke mit 2,6 % die geringste aufwies. Beim Vergleich der verschiedenen Glockengrößen fiel auf, dass sich die Glocken BT125 und BT175 im Notfallprogramm mit „Ortho“-Testblut hinsichtlich der Erythrozytenproduktion nicht signifikant voneinander unterschieden ($P = 0,310$), während sich die Differenz zwischen BT175 und BT225 mit $P = 0,032$ als signifikant erwies und zwischen den anderen Kombinationen an Glockengrößen sogar durchgehend hochsignifikante Unterschiede vorlagen.

4.1.3 Produkthämatokrit

Testblut „Cardio“

Der Hämatokrit des aus „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) gewonnenen Erythrozytenkonzentrates sank im Standardprogramm mit steigender Glockengröße von 53,1 % in der 125-ml-Glocke über 51,4 % in der 175-ml-Glocke auf 47,4 % in der 225-ml-Glocke (vergleiche hierzu Abbildung 4-3a). Eine Sonderrolle nahm die 55-ml-Glocke ein, die mit 47,4 % denselben Hämatokrit vorzuweisen hatte wie die 225-ml-Glocke. Die erfassten Messwerte zeigten dabei nur recht geringe Schwankungen mit Standardabweichungen, die – bezogen auf den Mittelwert – zwischen 1,8 und 4,0 % (BT125 bzw. BT225) lagen. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander zeigten sich für „Cardio“-Testblut im Standardprogramm mit Ausnahme der Glocken BT225 und BT55 – welche sich im Parameter „Hämatokrit“ überhaupt nicht unterschieden – signifikante ($P = 0,016$ für BT125 verglichen mit BT175) oder hochsignifikante ($P = 0,008$) Unterschiede.

Verglichen mit dem Standardprogramm erreichte das Programm Popt bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut durchgehend höhere Hämatokritwerte, die mit relativen Standardabweichungen zwischen 2,1 und 2,7 % (BT225 bzw. BT55) nur relativ geringen Schwankungen unterlagen. Für die Glocken BT125 und BT175 betrug die Hämatokritsteigerung lediglich 2,1 bzw. 3,2 % des Standardwertes, sodass Mittelwerte von 54,2 bzw. 53,1 % erreicht wurden, während die Steigerung für die Glocken BT55 und BT225 14,6 bzw. 23,0 % betrug, was zu Durchschnittswerten von 54,3 bzw. 58,3 % führte. Die Zunahme des Hämatokrits gegenüber dem Standardprogramm erwies sich für die Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,151$ bzw. $P = 0,095$ als nicht signifikant, wohingegen die Glocken BT55 und BT225 eine hochsignifikante ($P = 0,008$) Steigerung des Hämatokrits zu verzeichnen hatten. Im Programm Popt zeigte sich bei Verwendung von „Cardio“-Testblut kein Unterschied zwischen dem Produkthämatokrit der Glocken BT55 und BT125 und auch die Glocken BT55 und BT175 sowie BT125 und BT175 unterschieden sich mit $P = 0,310$ bzw. $P = 0,222$ nicht signifikant voneinander. Demgegenüber erzielte

die 225-ml-Glocke einen hochsignifikant höheren Produkthämatokrit als alle anderen verfügbaren Glocken.

Das Notfallprogramm „Pem“ erzielte bei Verwendung von „Cardio“-Testblut stets einen hochsignifikant ($P = 0,008$) niedrigeren Produkthämatokrit als das Standardprogramm „Pstd“: In der 125-ml-Glocke sank der Produkthämatokrit im Vergleich zu dem im Standardprogramm erreichten Mittelwert um 26,8 % auf durchschnittlich 38,9 %, in der 175-ml-Glocke um 15,0 % auf einen Mittelwert von 43,7 %, in der 225-ml-Glocke um 20,0 % auf einen Durchschnittswert von 37,9 % und in der 55-ml-Glocke um 6,7 % auf einen mittleren Hämatokritwert von 44,2 %. Die relativen Standardabweichungen vom Mittelwert lagen im Notfallprogramm mit „Cardio“-Testblut zwischen 3,6 und 5,3 % (BT125 bzw. BT225) und damit etwas über dem Niveau der Standardabweichungen des Standardprogramms. Letztlich unterschieden sich die Hämatokritwerte der Glocken BT125 und BT225 ($P = 0,421$) sowie jene der Glocken BT55 und BT175 ($P = 0,690$) im Notfallprogramm bei Verwendung von „Cardio“-Testblut nicht signifikant voneinander, während die anderen Kombinationen verschiedener Glockengrößen hochsignifikante Unterschiede aufwiesen.

Testblut „Ortho“

Wie auch aus Abbildung 4-3b ersichtlich, entsprachen die Ergebnisse der Versuche, welche mit „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) durchgeführt wurden, weitgehen denen, die bei den Versuchen mit „Cardio“-Testblut zu beobachten waren. Einzig in der 125-ml-Glocke zeigte sich im Notfallprogramm mit $P = 0,008$ eine hochsignifikante Zunahme des Produkthämatokrits.

Im Standardprogramm lag der Produkthämatokrit mit „Ortho“-Testblut bei den Glocken BT125 und BT55 mit 53,0 bzw. 47,2 % auf demselben Niveau wie mit „Cardio“-Testblut und auch die Glocke BT175 zeigte bei einem Produkthämatokrit von durchschnittlich 44,9 % keine signifikante Veränderung ($P = 0,222$) gegenüber dem mit „Cardio“-Testblut ermittelten Wert. Mit 49,4 % lag der im Standardprogramm mit „Ortho“-Testblut ermittelte Produkthämatokrit in der 225-ml-Glocke zwar 4,3 % über

dem mit „Cardio“-Testblut ermittelten Durchschnittswert – bei einer relativen Standardabweichung von 4,6 % war diese Steigerung jedoch nicht als signifikant einzustufen ($P = 0,117$). Eine höhere relative Standardabweichung konnte mit 6,2 % bei der 55-ml-Glocke beobachtet werden, während diese bei den Glocken BT125 und BT175 mit 2,6 bzw. 1,1 % niedriger ausfiel. Im Vergleich der einzelnen Glockengrößen untereinander ergab sich für die Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,222$ sowie für die Glocken BT55 und BT225 mit $P = 0,126$ kein signifikanter Unterschied, wohingegen sich alle anderen Kombinationen im Wert des im Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut erreichten Produkthämatokrits hochsignifikant voneinander unterschieden.

Das Programm Popt wies bei Verwendung von „Ortho“-Testblut zweimal höhere und zweimal niedrigere Hämatokritwerte auf als beim Einsatz von „Cardio“-Testblut. Im Einzelnen stieg der Hämatokritwert in den Glocken BT55 und BT225 um 2,9 bzw. 0,5 % an und sank in den Glocken BT125 und BT175 um 2,4 bzw. 2,5 %. Von Signifikanz waren diese Differenzen gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut jedoch in keinem der Fälle. Im Vergleich mit dem Standardprogramm erzielte das Programm Popt durchgehend höhere Hämatokritwerte: In der 125-ml-Glocke stieg der Produkthämatokrit signifikant um 4,9 % auf durchschnittlich 55,6 %, während sich die Steigerungen in den Glocken BT175 und BT225 mit 4,2 bzw. 17,3 % auf Mittelwerte von 54,4 bzw. 58,0 % als hochsignifikant erwiesen. Mit einer Zunahme des Hämatokrits um 11,7 % auf durchschnittlich 52,7 % verpasste die 55-ml-Glocke bei einer relativen Standardabweichung von 7,6 % mit $P = 0,052$ knapp das Signifikanzniveau. Die anderen Glocken wiesen mit Variationskoeffizienten von 1,2 bis 3,3 % (BT175 bzw. BT125) geringere Schwankungsbreiten auf. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander hob sich die 225-ml-Glocke hervor, welche sich im Hämatokritwert hochsignifikant von den Glocken BT175 und BT55 unterschied und das Signifikanzniveau im Vergleich mit der 125-ml-Glocke mit $P = 0,052$ nur knapp verfehlte. Demgegenüber zeigten die Glocken BT55, BT125 und BT175 bei Verwendung von „Ortho“-Testblut untereinander keine signifikanten Unterschiede im Produkthämatokrit.

Im Notfallprogramm lag der mit „Ortho“-Testblut erzielte Produkthämatokrit stets höher als in den Versuchen mit „Cardio“-Testblut. In der 125-ml-Glocke erwies sich diese Zunahme um 6,2 % mit $P = 0,008$ sogar als hochsignifikant, während die Erhöhungen des Produkthämatokrits um 2,7 % in den Glocken BT55 und BT175 sowie um 5,5 % in der Glocke BT225 mit $0,095 \leq P \leq 0,429$ nicht von statistischer Signifikanz waren. Im Vergleich mit dem Standardprogramm erzielte das Notfallprogramm stets niedrigere Hämatokritwerte. Dieser Abfall des Hämatokrits erwies sich mit Ausnahme der 55-ml-Glocke ($P = 0,095$) durchgehend als hochsignifikant. Verglichen mit dem Standardprogramm sank der Hämatokrit mit der 125-ml-Glocke um 22,0 % auf einen Mittelwert von 41,3 %. Während sich die Glocken BT175 und BT225 mit Abnahmen um 14,1 bzw. 19,0 % auf durchschnittlich 44,9 bzw. 40,0 % auf einem ähnlichen Niveau bewegten wie die 125-ml-Glocke, war der Abfall des Hämatokrits bei Verwendung der 55-ml-Glocke mit 3,8 % deutlich geringer ausgeprägt und führte zu einem Mittelwert von 45,4 %. Mit relativen Standardabweichungen zwischen 1,8 und 5,7 % (BT125 bzw. BT225) lag die Schwankungsbreite der Ergebnisse im Notfallprogramm in etwa auf demselben Niveau wie im Standardprogramm. Während sich die Werte des mit „Ortho“-Testblut im Notfallprogramm erzielten Produkthämatokrits der Glocken BT125 und BT225 mit $P = 0,247$ sowie der Glocken BT55 und BT175 mit $P = 0,548$ nicht signifikant voneinander unterschieden, wiesen die restlichen Kombinationen an Glockengrößen stets hochsignifikante Unterschiede auf.

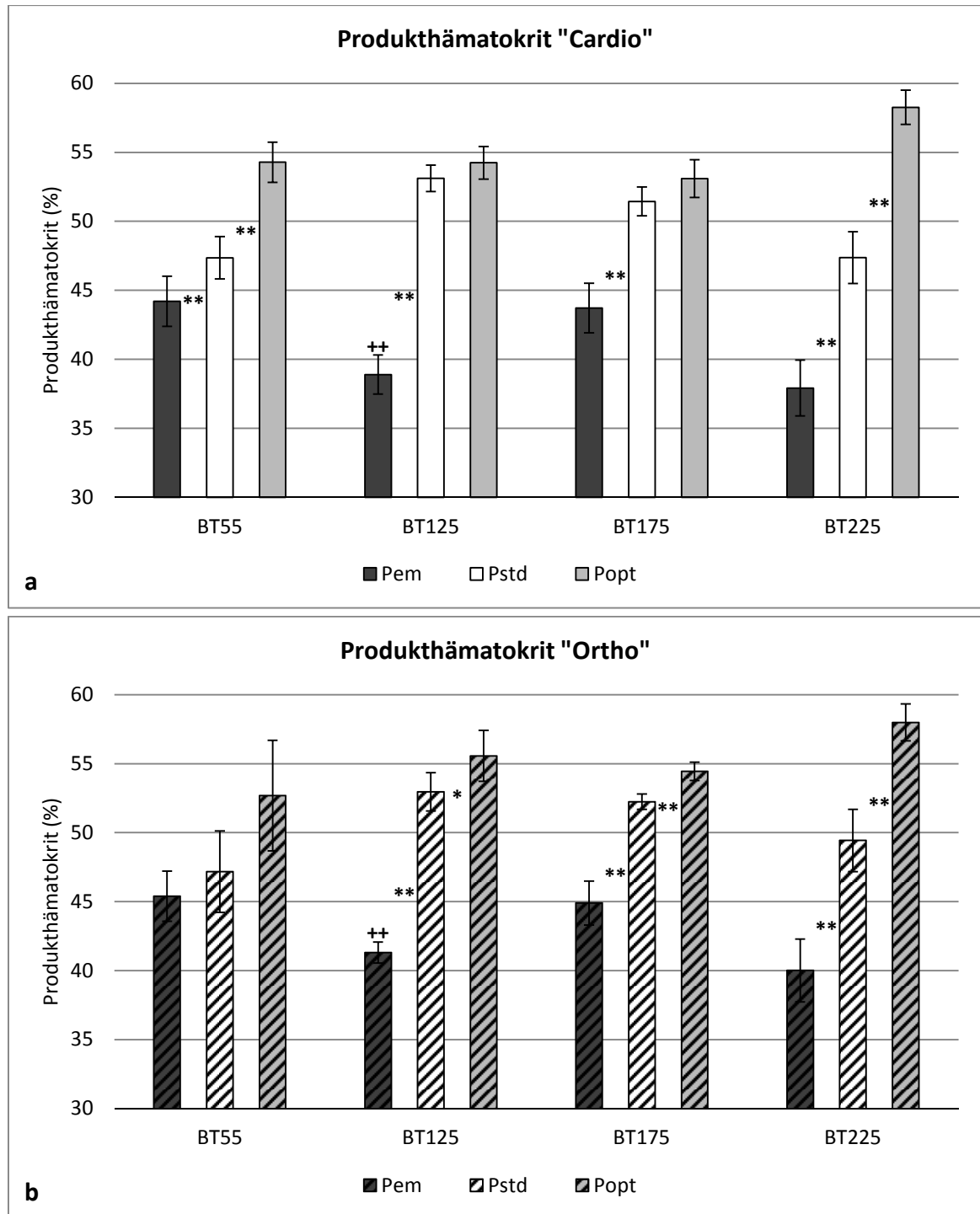


Abbildung 4-3. Produkthämatokrit. Hämatokrit des produzierten Erythrozytenkonzentrates in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.4 Erythrozytenausbeute

Testblut „Cardio“

Zur Berechnung der Erythrozytenausbeute wurden die Hämatokritwerte sowie die Volumina von verwendetem Testblut und gewonnenem Erythrozytenkonzentrat herangezogen. Sie bewegte sich bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) im Standardprogramm zwischen 91,1 % in der 225-ml-Glocke und 97,3 % in der 125-ml-Glocke (vergleiche hierzu Abbildung 4-4a). Dass die 175-ml-Glocke mit einem Wert von durchschnittlich 96,1 % zwischen diesen Extremen lag, sprach für eine tendenzielle Abnahme der Erythrozytenausbeute mit steigender Glockengröße – dies konnte die 55-ml-Glocke bei einem Mittelwert von 94,5 % jedoch nicht bestätigen. Mit relativen Standardabweichungen zwischen 0,8 und 2,0 % (BT55 bzw. BT225) lag die Schwankungsbreite der mit „Cardio“-Testblut ermittelten Werte im Standardmodus auf einem recht niedrigen Niveau. Verglich man die Erythrozytenausbeute der 175-ml-Glocke mit jener der 125- oder 55-ml-Glocke, so ergab sich im Standardprogramm bei „Cardio“-Testblut kein signifikanter Unterschied ($P = 0,421$ bzw. $0,222$). Die anderen Glockengrößen zeigten untereinander stets hochsignifikante Differenzen in der Erythrozytenausbeute.

Ein Wechsel vom Standardprogramm auf das Programm Popt führte unter der Verwendung von „Cardio“-Testblut bei den Glocken BT55, BT125 und BT175 lediglich zu einer insignifikanten ($P = 0,421$ bzw. $0,690$ und $0,548$) Erhöhung der Erythrozytenausbeute um 0,6 bzw. 0,3 und 0,9 %, sodass Mittelwerte von 95,0 bzw. 97,6 und 96,9 % erreicht wurden. Lediglich bei der 225-ml-Glocke war eine hochsignifikante ($P = 0,008$) Zunahme der Erythrozytenausbeute um 5,7 % auf einen Mittelwert von 96,2 % zu verzeichnen. Die relativen Standardabweichungen lagen für die Glocken BT125, BT175 und BT225 im Programm Popt mit Werten zwischen 1,0 und 1,6 % (BT125 bzw. BT175) in etwa auf demselben Niveau wie die im Standardprogramm ermittelten, wohingegen die 55-ml-Glocke mit 3,7 % darüber lag. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander zeigten sich im Programm Popt bei Verwendung von „Cardio“-Testblut nie signifikante

Unterschiede. Dem Signifikanzniveau von 5 % am nächsten lag die Differenz der Erythrozytenausbeute der Glocken BT125 und BT225 mit $P = 0,095$.

Im Notfallprogramm „Pem“ lagen die Erythrozytenausbeuten der Glocken BT125 und BT55 bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut mit durchschnittlich 91,6 bzw. 80,6 % jeweils 5,9 bzw. 14,7 % unter jenen, welche im Standardprogramm erreicht wurden. Diese Differenzen waren mit $P = 0,008$ hochsignifikant, während die Glocken BT175 und BT225 mit Erythrozytenausbeuten von 94,2 bzw. 90,9 % lediglich 2,0 bzw. 0,2 % unterhalb der im Standardprogramm erreichten Werte lagen und somit keine signifikanten Abnahmen zu verzeichnen hatten ($P = 0,095$ bzw. $0,690$). Mit einem Variationskoeffizienten von 8,6 % lag die Glocke BT55 deutlich über dem Niveau der relativen Standardabweichungen der anderen Glocken, welche sich zwischen 0,9 und 3,3 % (BT175 bzw. BT125) bewegten. Ein signifikanter Unterschied der im Notfallprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut erreichten Erythrozytenausbeute im Vergleich mit den anderen Glockengrößen war nur für die 55-ml-Glocke auszumachen, auch wenn sich die Glocke BT175 im Vergleich mit der 225-ml-Glocke dem Signifikanzniveau mit $P = 0,095$ zumindest näherte.

Testblut „Ortho“

Wurde für die Ermittlung der Erythrozytenausbeute auf „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) zurückgegriffen, so ergab sich im Standardprogramm lediglich für die 175-ml-Glocke ein hochsignifikanter Unterschied ($P = 0,008$) gegenüber der Verwendung von „Cardio“-Testblut, da der ermittelte Wert in diesem Falle mit 91,3 % um 4,9 % niedriger lag (vergleiche hierzu Abbildung 4-4b). Die 125-ml-Glocke hingegen verpasste mit einer Abnahme der Erythrozytenausbeute um 3,0 % auf einen Mittelwert von 94,4 % das Signifikanzniveau von 5 % mit $P = 0,056$ knapp, während für die Glocken BT55 und BT225 bei Differenzen von 0,6 bzw. 0,5 % und Mittelwerten von 95,0 bzw. 91,5 % kein signifikanter Unterschied zu den Versuchen mit „Cardio“-Testblut auszumachen war ($P = 0,690$ bzw. $0,931$). Die relativen Standardabweichungen lagen im Standardprogramm bei der Verwendung von „Ortho“-Testblut mit Werten zwischen 0,8 und 3,0 % (BT225 bzw. BT55)

auf einem ähnlichen Niveau wie mit „Cardio“-Testblut (0,8 und 2,0 %). Vergleich man die verschiedenen Glockengrößen im Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut miteinander, so war für die Glocken BT125 und BT55 sowie für die Glocken BT175 und BT225 mit $P = 0,841$ bzw. $0,931$ kein signifikanter Unterschied auszumachen, während die Glocke BT55 im Vergleich mit der Glocke BT225 das Signifikanzniveau mit $P = 0,052$ nur knapp verfehlte und es im Vergleich mit der Glocke BT175 mit $P = 0,032$ erreichte. Hochsignifikante Unterschiede ließen sich für die Glocke BT125 ausmachen, wenn man sie mit den beiden größeren Glocken BT175 oder BT225 verglich.

Im Programm Popt lag die Erythrozytenausbeute der Versuche mit „Ortho“-Testblut stets unterhalb jener, die mit „Cardio“-Testblut erreicht wurde. Von Signifikanz war diese Abnahme allerdings nur bei den Glocken BT175 und BT225 ($P = 0,016$ bzw. $0,004$), bei denen die durchschnittliche Erythrozytenausbeute mit 94,7 bzw. 92,6 % um 2,3 bzw. 3,7 % unter jener lag, die mit „Cardio“-Testblut erzielt wurde. Die Verringerung der Erythrozytenausbeute der Glocken BT55 und BT125 um 2,3 bzw. 1,2 % erwies sich hingegen mit $P = 0,537$ bzw. $0,421$ als nicht signifikant. Gegenüber dem Standardprogramm zeigte sich, dass das Programm Popt bei Verwendung von „Ortho“-Testblut lediglich in der 175-ml-Glocke eine hochsignifikante Zunahme der Erythrozytenausbeute erzielte. Sie lag in diesem Falle bei 3,6 %, was zu einem Mittelwert von 94,7 % führte. In den Glocken BT125 und BT225 lag die Erythrozytenausbeute 2,1 bzw. 1,2 % höher als im Standardprogramm und somit bei 96,5 bzw. 92,6 %, während sie in der Glocke BT55 um 2,3 % niedriger lag. Weder die Zunahme der Erythrozytenausbeute gegenüber dem Standardprogramm, welche in den Glocken BT125 und BT225 ($P = 0,222$ bzw. $0,132$) zu beobachten war, noch deren Abnahme in der Glocke BT55 ($P = 0,329$) waren jedoch von Signifikanz. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander konnte sich die 55-ml-Glocke von keiner der anderen Glocken signifikant absetzen. Demgegenüber brachte der Vergleich der Glocken BT125 und BT175 sowie der Glocken BT175 und BT225 im Programm Popt unter Verwendung von „Ortho“-Testblut mit $P = 0,016$ bzw. $0,030$ einen signifikanten Unterschied. Die 125-ml-Glocke zeigte gegenüber der 225-ml-Glocke mit $P = 0,004$ sogar eine hochsignifikant höhere Erythrozytenausbeute.

Das Notfallprogramm „Pem“ unterschied sich in der Erythrozytenausbeute bei Verwendung von „Ortho“-Testblut in den Glocken BT125 und BT225 mit einer Zu- bzw. Abnahme von 0,8 bzw. 1,0 % nicht signifikant ($P = 0,841$ bzw. $0,537$) von den Ergebnissen, die mit „Cardio“-Testblut erzielt wurden. Hochsignifikant war demgegenüber die Zunahme der Erythrozytenausbeute mit der 55-ml-Glocke, die im Vergleich zu dem Wert, der mit „Cardio“-Testblut erreicht wurde, 16,6 % betrug. In der 175-ml-Glocke wiederum war im Notfallprogramm gegenüber der Verwendung von „Cardio“-Testblut eine hochsignifikante Abnahme der Erythrozytenausbeute von 4,8 % zu verzeichnen. Im Vergleich mit dem Standardprogramm lag die Erythrozytenausbeute der 125-ml-Glocke um 2,3 % niedriger, was in etwa auch den Differenzen der 175- und der 225-ml-Glocke mit 1,9 bzw. 1,8 % entsprach, während die 55-ml-Glocke lediglich eine Abnahme von 1,1 % zu verzeichnen hatte. Diese Differenzen waren jedoch in keiner der Glocken von Signifikanz. Die Mittelwerte der Erythrozytenausbeute betrugen demnach im Notfallprogramm beim Einsatz von „Ortho“-Testblut für die Glocken BT55 bis BT225 jeweils 94,0 %, 92,3 %, 89,6 % und 89,9 %. Mit relativen Standardabweichungen zwischen 1,2 und 3,0 % (BT225 bzw. BT55) lag die Schwankungsbreite der Ergebnisse im Notfallprogramm in etwa auf dem gleichen Niveau wie im Standardprogramm. Signifikante Differenzen in der Erythrozytenausbeute zwischen den verschiedenen Glockengrößen ergaben sich im Notfallprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut nur für die 55-ml-Glocke, wenn man sie der 175- oder 225-ml-Glocke gegenüberstellte ($P = 0,032$ bzw. $0,017$). Mit $P = 0,056$ lag die Differenz der Glocken BT125 und BT175 knapp über dem Signifikanzniveau von 5 %.

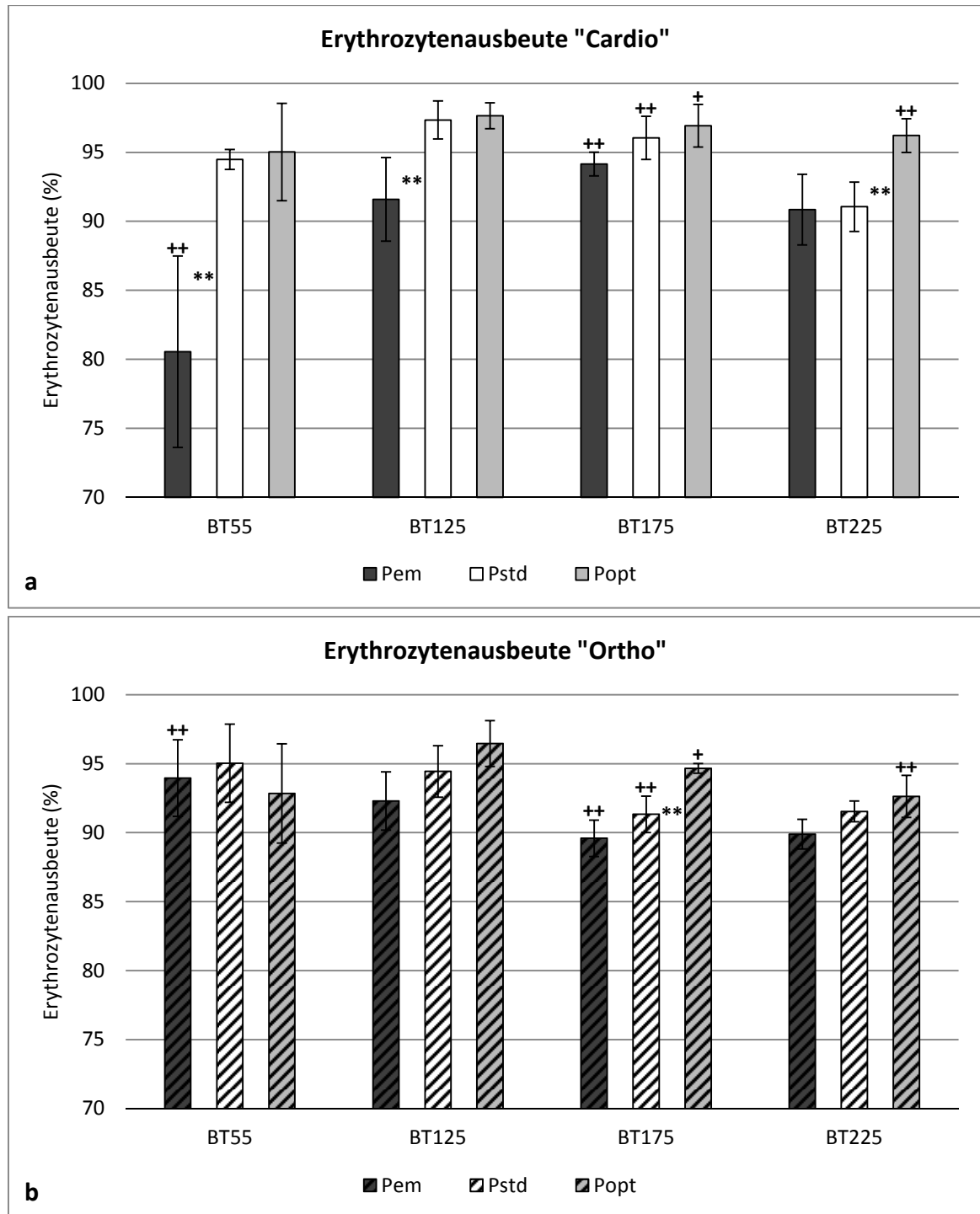


Abbildung 4-4. Erythrozytenausbeute. Prozentsatz an Erythrozyten, welcher durch den Waschvorgang vom Testblut in das Erythrozytenkonzentrat überführt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.5 Leukozytenausbeute

Die Leukozytenausbeute beschreibt, wie viel Prozent der im verarbeiteten Testblut vorhandenen Leukozyten im Erythrozytenkonzentrat wieder zu finden waren. Berechnet wurde diese Ausbeute mittels der gemessenen Volumina sowie der ermittelten Konzentrationen an Leukozyten des verarbeiteten Testbluts und des gewonnenen Erythrozytenkonzentrates. Eine graphische Darstellung der so ermittelten Leukozytenausbeuten bietet Abbildung 4-5.

Generell wiesen die Ergebnisse der Leukozytenausbeute mit relativen Standardabweichungen von durchschnittlich 22,4 % eine wesentlich höhere Streubreite auf als die Ergebnisse der Erythrozytenausbeute, welche einen durchschnittlichen Variationskoeffizienten von 2,2 % vorzuweisen hatten. Neben der hohen Streubreite fiel auf, dass bei einigen Versuchen rechnerisch Leukozytenausbeuten von über 100 % auftraten. Zudem zeigten sich zwischen den verschiedenen Glockengrößen nie signifikante Unterschiede in der Leukozytenausbeute und auch die Ergebnisse der Programme Pem und Popt hoben sich nie signifikant von jenen des Standardprogramms ab.

Testblut „Cardio“

Die relativen Standardabweichungen der Leukozytenausbeuten der mit dem Testblut „Cardio“ (Hämatokrit = 25 %) durchgeführten Versuche lagen bei einem Mittelwert von 26,1 % zwischen 9,0 und 54,1 %.

Im Standardprogramm lag die Leukozytenausbeute bei Verwendung von „Cardio“-Testblut zwischen 56,7 und 70,5 % (BT225 bzw. BT55). Die Glocken BT125 und BT175 kamen auf Mittelwerte von 57,4 bzw. 64,1 %. Es zeigte sich somit keine Korrelation der Leukozytenausbeute mit der Glockengröße.

Ein Wechsel vom Standardprogramm auf das Programm Popt führte zu keiner signifikanten Veränderung der Leukozytenausbeute. In den Glocken BT125 und BT175 war mit Durchschnittswerten von 60,8 bzw. 65,2 % tendenziell eine Erhöhung (um 6,0 bzw. 1,7 %) der Leukozytenausbeute zu beobachten, in den Glocken BT55 und BT225 mit 66,9

bzw. 48,1 % eher eine Abnahme (um 5,0 bzw. 15,1 %). Wie auch im Standardprogramm war keine Korrelation der Leukozytenausbeute mit der Glockengröße zu erkennen.

Das Notfallprogramm „Pem“ zeigte bei Verwendung von „Cardio“-Testblut in keiner Glocke einen signifikanten Unterschied der Leukozytenausbeute gegenüber dem Standardprogramm, auch wenn in den Glocken BT125, BT175 und BT225 mit Werten von 64,2 %, 66,6 % und 65,9 % jeweils um 11,8 %, 3,9 % oder 16,3 % höhere Ergebnisse erzielt wurden. In der 55-ml-Glocke lag die Leukozytenausbeute um 0,8 % niedriger als im Standardmodus und somit bei einem Wert von 69,9 %.

Testblut „Ortho“

In den Versuchen mit „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) lag die Leukozytenausbeute durchgehend höher als in den Versuche mit „Cardio“-Testblut. Diese Zunahme war jedoch lediglich in zwei Fällen signifikant (BT55 im Pstd-Modus und BT125 im Pem-Modus) und in nur einem Fall hochsignifikant (BT55 im Pem-Modus). Die relativen Standardabweichungen der Leukozytenausbeuten bewegten sich bei einem Mittelwert von 18,8 % zwischen 7,3 und 27,7 %.

Einzig die Leukozytenausbeute der 55-ml-Glocke unterschied sich bei Verwendung von „Ortho“-Testblut im Standardprogramm signifikant ($P = 0,032$) von jener, die mit „Cardio“-Testblut ermittelt wurde: Diese lag um 19,9 % höher als bei den Versuchen mit „Cardio“-Testblut und somit bei einem Mittelwert von 84,5 %. Die Glocken BT125, BT175 und BT225 zeigten mit „Ortho“-Testblut zwar stärkere Zunahmen von 21,5 %, 31,6 % und 27,8 % auf Durchschnittswerte von 69,7 %, 84,3 % und 72,4 %, näherten sich dem Signifikanzniveau aber nicht näher als bis auf $P = 0,222$ (BT125 und BT175).

Das Programm Popt zeigte, was die Leukozytenausbeute betrifft, keine signifikanten Unterschiede in der Verwendung von „Ortho“- oder „Cardio“-Testblut. Mit steigender Größe wiesen die verschiedenen Glocken im Programm Popt bei der Verwendung von „Ortho“-Testblut durchschnittliche Leukozytenausbeuten von 80,4 %, 77,1 %, 72,8 % und 68,2 % auf, was gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut Zunahmen um 20,1 %, 26,7 %, 11,8 % und 41,7 % entsprach. Im Vergleich mit dem Standardprogramm unter

Verwendung von „Ortho“-Testblut waren ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Leukozytenausbeute zu beobachten. Insignifikante Abnahmen der Leukozytenausbeute gegenüber dem Standardprogramm fanden sich in den Glocken BT55, BT175 und BT225: Diese betrugen 4,9 %, 13,6 % und 5,9 %, was zu Mittelwerten von 80,4 %, 72,8 % und 68,2 % führte. In der 125-ml-Glocke hingegen war bei einer durchschnittlichen Leukozytenausbeute von 77,1 % eine insignifikante Zunahme von 10,5 % gegenüber dem Standardprogramm auszumachen.

Der Notfallmodus „Pem“ erzielte mit „Ortho“-Testblut im Vergleich zu „Cardio“-Testblut stets eine Erhöhung der Leukozytenausbeute, die im Falle der 55-ml-Glocke mit 27,1 % hochsignifikant ($P = 0,008$), bei der Glocke BT125 mit 78,2 % signifikant ($P = 0,032$), in der 225-ml-Glocke mit 41,0 % zumindest beinahe signifikant ($P = 0,052$) und in der 175-ml-Glocke mit 18,8 % insignifikant ($P = 0,222$) war. Auffälligerweise ergaben sich in der 125-ml-Glocke bei 4 von 5 Messungen rechnerisch Leukozytenausbeuten von über 100 % (108,4 %, 123,5 %, 131,3 % und 137,2 %). In der 225-ml-Glocke war dies bei 2 von 6 Messungen (122,7 und 103,4 %) der Fall. Im Vergleich mit dem Standardprogramm wies das Notfallprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut keinen eindeutigen Trend auf: In der 175-ml-Glocke sank die Leukozytenausbeute um 6,2 % auf durchschnittlich 79,1 %, während sie in der 55-ml-Glocke um 5,2 % auf einen Mittelwert von 88,8 % anstieg. In den Glocken BT225 und BT125 wiederum war der Anstieg mit 28,3 bzw. 64,0 % wesentlich stärker ausgeprägt und führte zu durchschnittlichen Leukozytenausbeuten von 92,9 bzw. 114,3 %. Vom Standardprogramm signifikant absetzen konnte sich die Leukozytenausbeute des Notfallprogramms jedoch in keiner der Glocken.

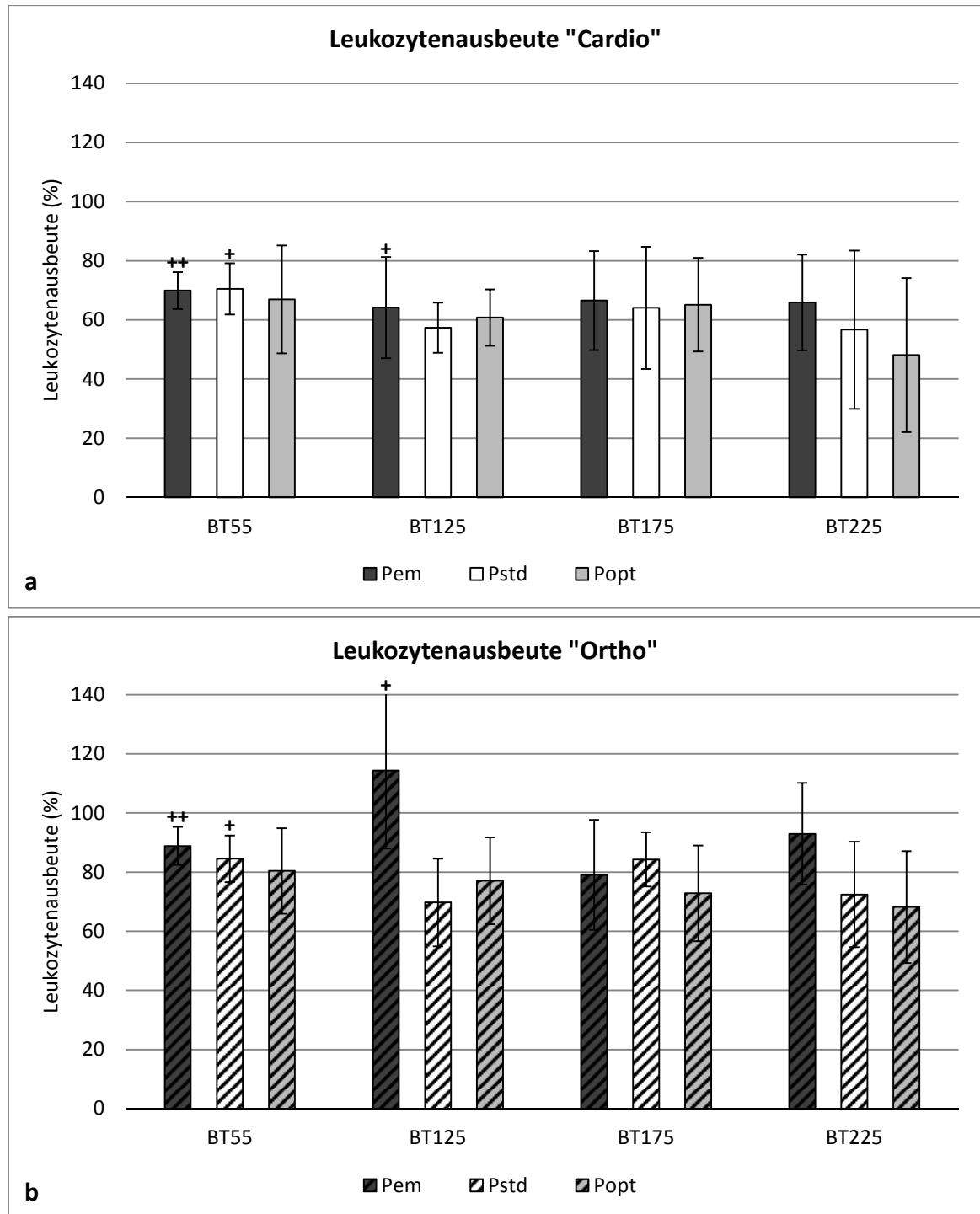


Abbildung 4-5. Leukozytenausbeute. Prozentsatz an Leukozyten, welcher durch den Waschvorgang vom Testblut in das Erythrozytenkonzentrat überführt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+ für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (++) für $P < 0,01$) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. Weder Pem noch Popt zeigten signifikante Differenzen gegenüber Pstd. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.6 Thrombozytenausbeute

Die Thrombozytenausbeute gibt an, welcher Prozentsatz der im verarbeiteten Testblut vorliegenden Thrombozyten sich im Erythrozytenkonzentrat wiederfand. Errechnet wurde diese Ausbeute aus den gemessenen Volumina sowie den ermittelten Konzentrationen an Thrombozyten des verarbeiteten Testbluts und des gewonnenen Erythrozytenkonzentrats. Eine übersichtliche Darstellung der so erfassten Thrombozytenausbeuten bietet Abbildung 4-6.

Auffällig war bei diesem Parameter die hohe Streubreite der Ergebnisse, welche bei einer mittleren relativen Standardabweichung von 44,5 % Variationskoeffizienten von 20,5 bis 81,4 % aufwiesen. Damit lag die mittlere relative Standardabweichung der Thrombozytenausbeute erheblich höher als jene der Erythrozytenausbeute, welche 2,2 % betrug, und auch deutlich über jener der Leukozytenausbeute, welche auf einen Wert von 22,4 % kam. Zudem lagen die ermittelten Werte stets erheblich unter dem Niveau der Erythrozytenausbeute und zumeist auch deutlich unter jenem der Leukozytenausbeute.

Testblut „Cardio“

Bei Verwendung von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) erwies sich die Thrombozytenausbeute im Standardprogramm in den Glocken BT125 und BT225 mit 20,2 bzw. 19,2 % am niedrigsten und in der 55-ml-Glocke mit 40,7 % am höchsten, während die 175-ml-Glocke mit 28,0 % in etwa in der Mitte des Spektrums lag. Die Differenzen in der Thrombozytenausbeute der verschiedenen Glockengrößen im Standardprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut waren lediglich dann von Signifikanz, wenn man die 55-ml-Glocke mit der 125- (P = 0,008) oder der 225-ml-Glocke (P = 0,032) verglich.

Im Popt-Modus waren tendenziell geringere Thrombozytenausbeuten zu verzeichnen als im Standardprogramm – signifikant waren diese Abnahmen jedoch nie. Während in der 125-ml-Glocke eine insignifikante Zunahme gegenüber dem Standardprogramm (P = 0,841) um 5,9 % auf einen Mittelwert von 21,3 % zu verzeichnen war, sanken die Thrombozytenausbeuten der Glocken BT55, BT175 und BT225 im Vergleich mit dem

Standardprogramm insignifikant um 34,1 %, 11,6 % und 34,8 % auf durchschnittlich 26,8 %, 24,7 % und 12,5 %. Vergleich man im Popt-Modus bei Verwendung von „Cardio“-Testblut die verschiedenen Glockengrößen untereinander, so ergab sich in der Thrombozytenausbeute nie ein signifikanter Unterschied.

Das Notfallprogramm „Pem“ erzielte unter Verwendung von „Cardio“-Testblut tendenziell höhere Thrombozytenausbeuten als das Standardprogramm. Signifikant war diese Zunahme jedoch lediglich in der 125-ml-Glocke ($P = 0,016$), welche mit einem Durchschnittswert von 36,0 % die Thrombozytenausbeute des Standardprogramms um 78,5 % übertraf. In den Glocken BT175 und BT225 war die Erhöhung der Thrombozytenausbeute gegenüber dem Standardprogramm mit 21,6 bzw. 28,6 % weniger stark ausgeprägt und erzielte Mittelwerte von 34,0 bzw. 24,7 %. Mit durchschnittlich 39,5 % lag die Thrombozytenausbeute der 55-ml-Glocke im Notfallmodus lediglich um insignifikante 3,0 % niedriger als im Standardprogramm. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen hinsichtlich der Thrombozytenausbeute konnten sich im Notfallprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut lediglich die Glocken BT55 und BT225 mit $P = 0,016$ signifikant voneinander absetzen.

Testblut „Ortho“

Ein Wechsel auf „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) führte gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut lediglich ein einziges Mal zu signifikanten Unterschieden in der Thrombozytenausbeute: bei der 55-ml-Glocke im Notfallprogramm. Vergleich man unter Verwendung von „Ortho“-Testblut die verschiedenen Glockengrößen hinsichtlich der Thrombozytenausbeute miteinander, so konnten – unabhängig vom gewählten Programm – keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Im Standardprogramm zeigten die Glocken BT125, BT175 und BT225 gegenüber der Verwendung von „Cardio“-Testblut insignifikante Zunahmen der Thrombozytenausbeuten um 2,7 %, 20,8 % und 0,9 % auf Mittelwerte von 20,7 %, 33,8 % und 19,6 %. Eine insignifikante Abnahme der Thrombozytenausbeute um 23,1 % war in der 55-ml-Glocke zu ermitteln, welche einen Durchschnittswert von 31,3 % aufwies.

Das Programm Popt lieferte unter Einsatz von „Ortho“-Testblut Thrombozytenausbeuten, die in den Glocken BT55, BT125 und BT225 um 9,3 %, 41,1 % und 53,7 % über den Ergebnissen lagen, welche unter Verwendung von „Cardio“-Testblut erzielt wurden. In der 175-ml-Glocke war hingegen eine Abnahme der Thrombozytenausbeute um 29,4 % zu beobachten. Gegenüber dem Standardprogramm zeigte das Programm Popt keine signifikanten Unterschiede. Bei Verwendung von „Ortho“-Testblut nahm die mittlere Thrombozytenausbeute des Programms Popt in der 125-ml-Glocke im Vergleich zum Standardprogramm um 45,4 % zu und erreichte somit einen Wert von 30,1 %. Abnahmen der Thrombozytenausbeuten gegenüber dem Standardprogramm fanden sich in den Glocken BT55, BT175 und BT225: Diese betrugen 6,3 %, 48,4 % und 0,8 %, was zu Mittelwerten von 29,3 %, 17,4 % und 19,2 % führte.

Im Notfallprogramm lag die Thrombozytenausbeute bei Verwendung von „Ortho“-Testblut in der 55-ml-Glocke bei einem Mittelwert von 22,4 % um signifikante ($P = 0,016$) 43,4 % niedriger als mit „Cardio“-Testblut. Demgegenüber waren weder die Zunahmen der Thrombozytenausbeuten in den Glocken BT125 und BT225 um 49,8 bzw. 19,3 % von Signifikanz, noch war es die Abnahme der Thrombozytenausbeute um 41,8 % in der Glocke BT175. Im Vergleich zum Standardprogramm unter der Verwendung von „Ortho“-Testblut stieg die Thrombozytenausbeute in den Glocken BT125 und BT225 um 160,3 bzw. 52,0 % auf 53,9 bzw. 29,4 % und fiel in den Glocken BT55 und BT175 um 28,5 bzw. 41,4 % auf durchschnittlich 22,4 bzw. 19,8 %, wobei keine dieser Veränderungen von Signifikanz war.

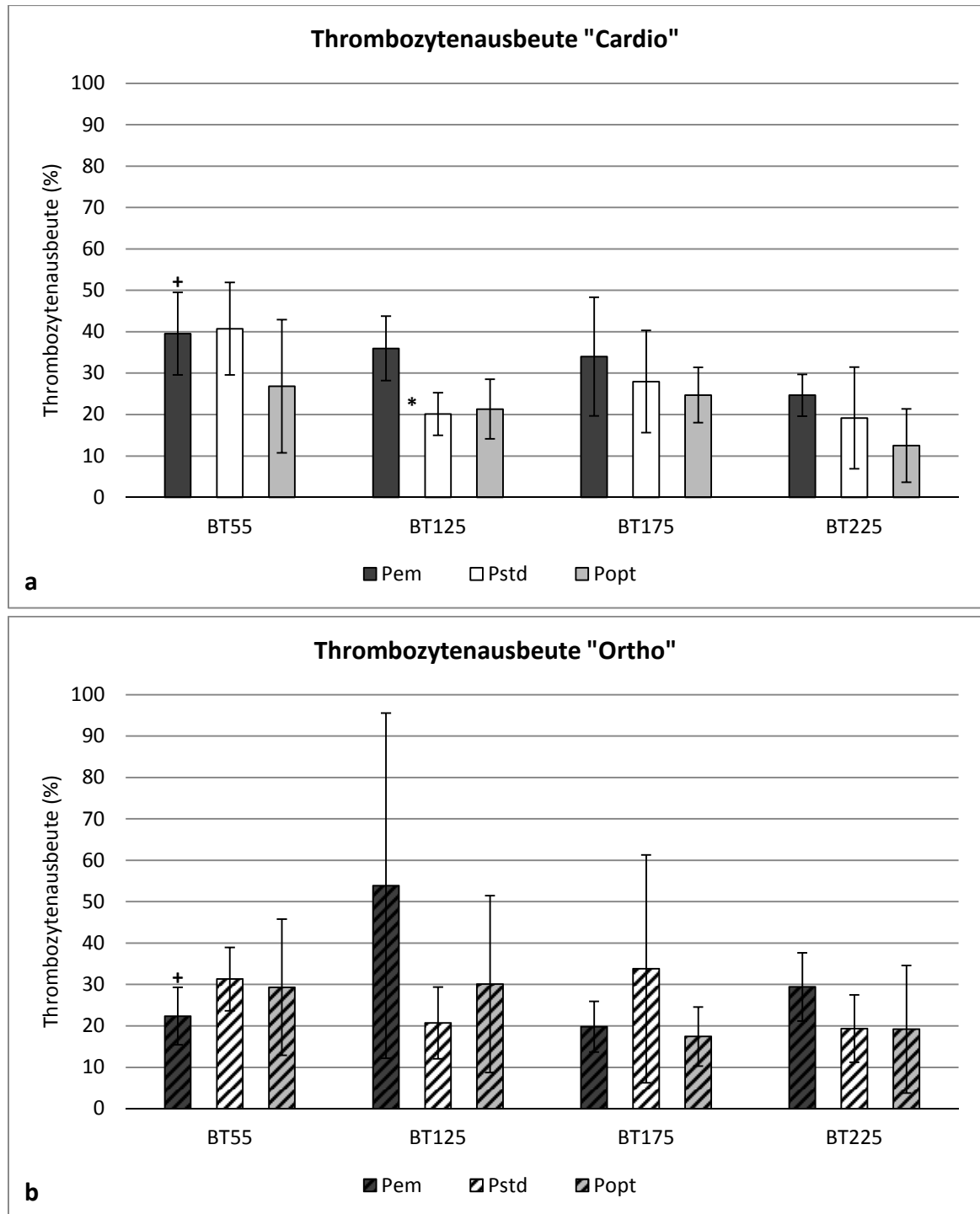


Abbildung 4-6. Thrombozytenausbeute. Prozentsatz an Thrombozyten, welcher durch den Waschvorgang vom Testblut in das Erythrozytenkonzentrat überführt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen (*) zwischen den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.7 Proteinelimination

Als Eiweißauswaschrates oder Proteinelimination bezeichnet man den prozentualen Anteil des Gesamtproteins, der durch den Waschvorgang aus dem verarbeiteten Testblut entfernt wird. Die Berechnung erfolgte über Volumen und Proteingehalt des Plasmaanteils von verarbeitetem Blut und erzeugtem Erythrozytenkonzentrat. Abbildung 4-7 bietet einen Überblick über die so ermittelten Ergebnisse.

Testblut „Cardio“

Bei Verwendung von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) lag die Eiweißauswaschrates im Standardprogramm zwischen 92,1 und 99,2 % (BT225 bzw. BT175). Das Mittelfeld bildeten die Glocken BT125 und BT55 mit Durchschnittswerten von 98,9 bzw. 97,0 %. Dabei unterlagen die Ergebnisse mit relativen Standardabweichungen von 0,2 bis 0,6 % (BT125 bzw. BT55) nur sehr geringen Schwankungen. Die Differenzen zwischen den verschiedenen Glockengrößen erwiesen sich im Standardprogramm – mit Ausnahme der Glocken BT125 und BT175 ($P = 0,151$) – stets als hochsignifikant.

Das Programm Popt erbrachte in den Glocken BT55, BT125 und BT175 gegenüber dem Standardprogramm keine signifikante Änderung der Proteinelimination: Diese wichen mit Durchschnittswerten von 97,1 %, 98,7 % und 98,8 % lediglich um 0,1 %, 0,2 % und 0,4 % von der des Standardprogramms ab. In der 225-ml-Glocke hingegen kam es zu einer hochsignifikanten ($P = 0,008$) Zunahme der Eiweißauswaschrates um 5,0 % auf einen Mittelwert von 96,6 %. Die relativen Standardabweichungen lagen mit Werten zwischen 0,2 und 0,4 % auf dem gleichen Niveau wie im Standardprogramm. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen im Popt-Modus unter Verwendung von „Cardio“-Testblut konnte für die Proteinelimination lediglich bei den Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,690$ kein signifikanter Unterschied ausgemacht werden – bei allen anderen Kombinationen an Glocken war dieser signifikant (BT55 und BT225) oder hochsignifikant.

Im Notfallprogramm „Pem“ lag die Proteinelimination bei Verwendung des Testbluts „Cardio“ – mit Ausnahme der 225-ml-Glocke – stets hochsignifikant unter jener des

Standardprogramms. In der 225-ml-Glocke kam es zu einer hochsignifikanten ($P = 0,008$) Zunahme der Eiweißauswaschrates um 2,4 % auf einen Mittelwert von 94,3 %. Bei den Glocken BT55, BT125 und BT175 betrug die Abnahme 2,1 %, 2,6 % und 3,5 % was zu Eiweißauswaschraten von 95,0 %, 96,3 % und 95,7 % führte. Die relativen Standardabweichungen lagen bei den Glocken BT55 und BT125 mit 1,7 bzw. 0,9 % höher als im Standardprogramm, während die Glocken BT175 und BT225 mit 0,3 bzw. 0,5 % auf demselben Niveau wie Pstd lagen. Verglich man die verschiedenen Glockengrößen untereinander, so unterschied sich im Pem-Modus unter Verwendung von „Cardio“-Testblut lediglich die 225-ml-Glocke hochsignifikant von den Glocken BT125 und BT175 – alle anderen Kombinationen an Glockengrößen wiesen keine signifikanten Unterschiede auf.

Testblut „Ortho“

Ein Wechsel von „Cardio“- auf „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) führte stets zu einer Zunahme der Proteinelimination, die sich mit Ausnahme der 55-ml-Glocke im Popt-Modus ($P = 0,052$) immer als signifikant (BT175 und BT125 im Pstd-Modus) oder hochsignifikant erwies.

Im Standardprogramm konnten unter Verwendung von „Ortho“-Testblut mit den Glocken BT125 und BT175 gegenüber der Verwendung von „Cardio“-Testblut dezente Verbesserungen der Proteinelimination um 0,5 bzw. 0,4 % erreicht werden, sodass sich Mittelwerte von 99,4 bzw. 99,6 % ergaben. Deutlicher fiel die Zunahme der Proteinelimination bei den Glocken BT55 und BT225 aus, die Steigerungen um 1,9 bzw. 5,5 % auf Durchschnittswerte von 98,8 bzw. 97,1 % aufwiesen. Die Schwankungsbreite der Ergebnisse entsprach mit relativen Standardabweichungen von 0,1 bis 0,6 % (BT175 bzw. BT225) jener, welche bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut zu beobachten war. Während sich die Glocken BT125 und BT175 unter Verwendung von „Ortho“-Testblut hinsichtlich der Proteinelimination nicht signifikant voneinander unterschieden ($P = 0,222$), erwiesen sich die Differenzen zwischen den restlichen Kombinationen an Glockengrößen im Standardprogramm stets als hochsignifikant.

Gegenüber der Verwendung von „Cardio“-Testblut waren im Programm Popt beim Einsatz von „Ortho“-Testblut Zunahmen der Proteinelimination zu verzeichnen, die für die Glocken BT125 und BT175 0,8 bzw. 0,7 % und für die Glocken BT55 und BT225 1,6 bzw. 2,2 % betrugen. Dabei erwies sich einzig die Steigerung der 55-ml-Glocke mit $P = 0,052$ als nicht signifikant, während sich die anderen Zunahmen allesamt als hochsignifikant herausstellten. Verglichen mit dem Standardprogramm führte das Programm Popt lediglich in der 225-ml-Glocke zu einer hochsignifikanten ($P = 0,002$) Zunahme der Proteinelimination, wohingegen in den Glocken BT55, BT125 und BT175 keine signifikante Veränderung auszumachen war. So betrug die Abweichung vom Standardprogramm in den Glocken BT55, BT125 und BT175 unter Verwendung von „Ortho“-Testblut lediglich 0,2 %, 0,1 % und 0,1 %, was zu Eiweißauswaschraten von 98,6 %, 99,5 % und 99,5 % führte. In der 225-ml-Glocke hingegen war eine Zunahme der Proteinelimination um 1,7 % auf einen Mittelwert von 98,7 % zu verzeichnen. Die Schwankungsbreite der Ergebnisse erwies sich in den Glocken BT125 und BT175 mit relativen Standardabweichungen von jeweils 0,1 % als extrem gering und auch die 225-ml-Glocke lieferte mit 0,4 % einen sehr guten Wert. Lediglich die 55-ml-Glocke fiel mit einem Variationskoeffizienten von 0,9 % etwas aus dem Rahmen. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander ergaben sich für die Glocken BT55 und BT225 sowie BT125 und BT175 im Programm Popt bei Verwendung von „Ortho“-Testblut mit $P = 0,589$ bzw. 0,841 keine signifikanten Unterschiede in der Proteinelimination. Alle anderen Kombinationen an Glockengrößen zeigten bezüglich der Eiweißauswaschrates allerdings hochsignifikante Differenzen.

Das Notfallprogramm „Pem“ erreichte mit „Ortho“-Testblut Proteineliminationsraten, die zwischen 2,7 und 3,7 % (BT125 bzw. BT225) höher lagen als unter Verwendung von „Cardio“-Testblut, wobei die Glocken BT55 und BT175 beide eine Zunahme von je 3,2 % zu verzeichnen hatten. Diese Veränderungen erwiesen sich stets als hochsignifikant, wohingegen der Vergleich der Programme Pem und Pstd unter Verwendung des Testbluts „Ortho“ nur im Falle der 175-ml-Glocke mit einer Abnahme von 0,8 % auf durchschnittlich 98,8 % einen hochsignifikanten Unterschied hervorbrachte. Demgegenüber

erwies sich die Verringerung der Proteinelimination der Glocken BT55 und BT125 um 0,8 bzw. 0,6 % auf Mittelwerte von 98,0 bzw. 98,9 % mit jeweils $P = 0,016$ nur als signifikant. Mit $P = 0,093$ als nicht signifikant stellte sich die Zunahme der Eiweißauswaschrates um 0,7 % dar, die in der 225-ml-Glocke zu verzeichnen war und eine Proteinelimination von 97,8 % ergab. Die relativen Standardabweichungen lagen im Notfallprogramm beim Einsatz von „Ortho“-Testblut mit Werten zwischen 0,2 und 0,5 % (BT175 bzw. BT225) auf demselben Niveau wie das Standardprogramm und teils deutlich unter den Werten, die im Notfallprogramm mit „Cardio“-Testblut zu verzeichnen waren. Verglich man im Notfallprogramm unter Einsatz von „Ortho“-Testblut die Glocken BT55 und BT225 sowie die Glocken BT125 und BT175 hinsichtlich der Proteinelimination miteinander, so ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($P = 0,329$ bzw. $0,841$) – bei allen anderen Kombinationen an Glockengrößen erwiesen sich die Unterschiede hingegen stets als hochsignifikant.

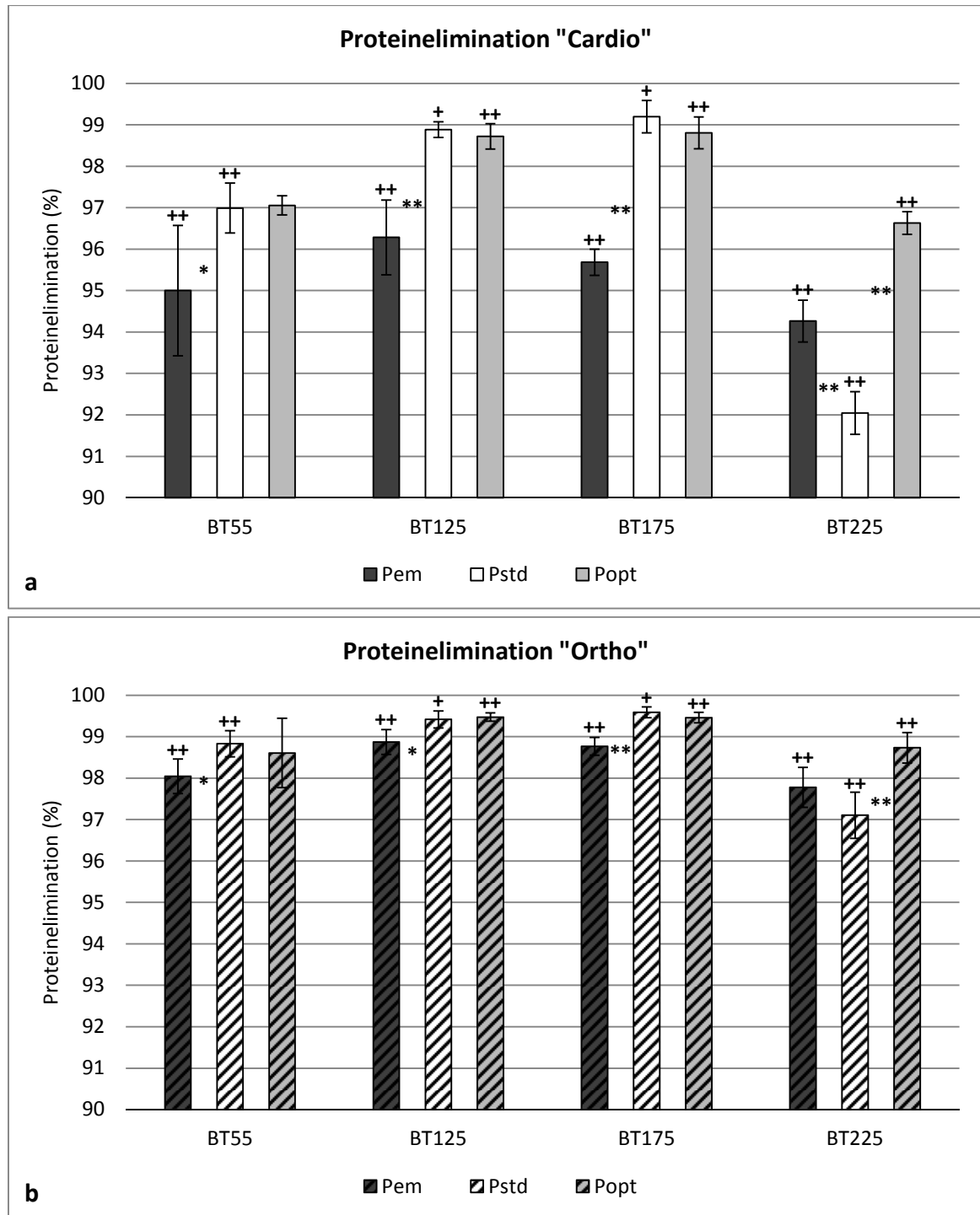


Abbildung 4-7. Proteinelimination. Prozentualer Anteil der Gesamtmasse an Protein, welcher durch den Waschvorgang aus dem Testblut entfernt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.8 Albuminelimination

Den prozentualen Anteil des Albumins, der durch den Waschvorgang aus dem verarbeiteten Testblut entfernt wird, bezeichnet man als Albuminelimination oder -auswaschräte. Berechnet wurde dieser Wert über Volumen und Albumingehalt des Plasmaanteils von verarbeitetem Testblut und gewonnenem Erythrozytenkonzentrat. Eine Übersicht über die so ermittelten Eliminationsraten bietet Abbildung 4-8.

Zwischen den Ergebnissen von Protein- und Albuminelimination zeigten sich in keinem einzigen Falle signifikante Unterschiede ($P \geq 0,222$) – unabhängig von Glockengröße, Waschprogramm und verwendetem Testblut. Ebenso erwiesen sich beim Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander – zumindest unter Verwendung von „Cardio“-Testblut – die signifikanten Differenzen in der Albuminelimination als identisch mit jenen der Proteinelimination. Für den Einsatz von „Ortho“-Testblut traf dies nur in knapp der Hälfte der Fälle zu. Des Weiteren korrelierten die relativen Standardabweichungen, welche für die Albumineliminationsraten ermittelt wurden, mit Extrema von 0,2 und 1,9 % bei einem Mittelwert von 0,6 % insgesamt recht gut mit jenen, die sich bei der Proteinelimination fanden.

Testblut „Cardio“

Bei Verwendung von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) betrug die Albuminelimination im Standardprogramm zwischen 92,1 und 99,2 % (BT225 bzw. BT175), wobei die Glocken BT55 und BT125 Werte von 97,1 bzw. 98,8 % erreichten.

Ein Wechsel auf das Programm Popt führte in der 225-ml-Glocke zu einer hochsignifikanten ($P = 0,008$) Zunahme der Albuminelimination um 4,9 % auf durchschnittlich 96,7 %, während die 55-ml-Glocke lediglich eine insignifikante ($P = 0,548$) Steigerung um 0,2 % auf 97,2 % vorzuweisen hatte. Die Glocken BT125 und BT175 zeigten demgegenüber beim Wechsel von Pstd auf Popt insignifikante ($P = 0,841$ bzw. 0,095) Abnahmen der Albuminelimination von jeweils 0,1 bzw. 0,4 % auf Mittelwerte von 98,7 bzw. 98,8 %.

Das Notfallprogramm „Pem“ bewirkte in den Glocken BT55, BT125 und BT175 bei Verwendung von „Cardio“-Testblut eine Verringerung der Albuminelimination gegenüber dem Standardprogramm, die sich in den Glocken BT125 und BT175 als hochsignifikant erwies und 2,5 bzw. 3,5 % betrug, was zu Mittelwerten von 96,3 bzw. 95,7 % führte. Die Abnahme um 2,0 %, die in der 55-ml-Glocke zu beobachten war und eine durchschnittliche Albuminelimination von 95,1 % ergab, war demgegenüber mit $P = 0,095$ nicht von Signifikanz. Als hochsignifikant erwies sich andererseits die Zunahme der Albuminelimination um 2,5 %, welche in der 225-ml-Glocke bei einem Mittelwert von 94,4 % zu beobachten war.

Testblut „Ortho“

Das Testblut „Ortho“ (Hämatokrit = 10 %) erbrachte gegenüber dem Testblut „Cardio“ stets höhere Albuminauswaschraten. Im Standardprogramm erwies sich diese Zunahme jedoch in den Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,095$ als nicht signifikant und auch im Programm Popt verfehlte die Differenz in der 55-ml-Glocke mit $P = 0,052$ knapp das Signifikanzniveau von 5 %. In allen anderen Fällen war die Zunahme der Albuminauswaschraten signifikant (BT125 und BT175 im Programm Popt sowie BT55 im Programm Pem) oder hochsignifikant.

Im Standardprogramm erzielte „Ortho“-Testblut im Vergleich mit „Cardio“-Testblut in den Glocken BT55 und BT225 Verbesserungen der Albuminelimination von 1,9 bzw. 5,3 %, wodurch Mittelwerte von 98,9 bzw. 97,0 % erreicht wurden. Die insignifikanten Zunahmen der Albuminelimination um 0,5 und 0,4 % in den Glocken BT125 und BT175 ergaben Durchschnittswerte von 99,4 bzw. 99,7 %. Verglich man die 125-ml-Glocke mit der 55- oder der 175-ml-Glocke, so ergab sich für die Albuminelimination dieser Glocken im Standardmodus bei Verwendung von „Ortho“-Testblut kein signifikanter Unterschied ($P = 0,095$ bzw. 0,310). Alle anderen Kombinationen an Glockengrößen wiesen dagegen stets hochsignifikante Unterschiede auf.

Das Programm Popt erzielte bei Verwendung von „Ortho“-Testblut Albuminauswaschraten, die bei den Glocken BT125 und BT175 um 0,8 bzw. 0,7 % und bei den Glo-

cken BT55 und BT225 um 1,5 bzw. 2,1 % über jenen lagen, die mit „Cardio“-Testblut zu verzeichnen waren. Hochsignifikant von der Albuminelimination des Standardprogramms absetzen konnte sich im Popt-Modus unter Verwendung von „Ortho“-Testblut lediglich die 225-ml-Glocke ($P = 0,009$), welche bei einem Mittelwert von 98,7 % eine Zunahme der Albuminauswaschrates um 1,7 % zu verzeichnen hatte. Insignifikant war demgegenüber sowohl die Erhöhung der Albuminelimination um 0,1 % auf 99,5 %, welche in der 125-ml-Glocke zu beobachten war, als auch die Verringerung der Albuminelimination um 0,2 % auf 98,7 bzw. 99,5 % in den Glocken BT55 und BT175. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander erwiesen sich die Unterschiede in der Albuminelimination des Programms Popt unter Verwendung von „Ortho“-Testblut bei den Glocken BT55 und BT225 sowie BT125 und BT175 mit $P = 0,589$ bzw. $0,841$ als nicht signifikant, während alle anderen Kombinationen an Glockengrößen hochsignifikante Differenzen aufwiesen.

Als einziger der drei verschiedenen Modi wies Pem unter Verwendung von „Ortho“-Testblut stets signifikant (BT55 mit $P = 0,016$) oder hochsignifikant höhere Albumineliminationen auf als bei Gebrauch von „Cardio“-Testblut. Der Umfang dieses Anstiegs der Eliminationsrate betrug dabei in den Glocken BT55 und BT175 je 3,2 %, in der 125-ml-Glocke 2,5 % und in der 225-ml-Glocke 3,6 %. Verglichen mit dem Standardprogramm beim Einsatz von „Ortho“-Testblut sanken die Albuminauswaschraten in den Glocken BT55, BT125 und BT175 im Notfallprogramm um 0,8 %, 0,6 % und 0,9 % auf Mittelwerte von 98,1 %, 98,8 % und 98,8 %. In der 225-ml-Glocke kam es demgegenüber zu einem Anstieg der Albuminelimination um 0,8 % auf einen Mittelwert von 97,8 %. Von hoher Signifikanz war dabei mit $P = 0,008$ lediglich die Zunahme, welche in der 175-ml-Glocke zu verzeichnen war. Die Glocken BT55 ($P = 0,095$), BT125 ($P = 0,056$) und BT225 ($P = 0,065$) hingegen verfehlten stets das Signifikanzniveau von 5 %. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander wiesen lediglich die Glocken BT125 und BT225 einen mit $P = 0,009$ hochsignifikanten Unterschied in der Albuminelimination auf.

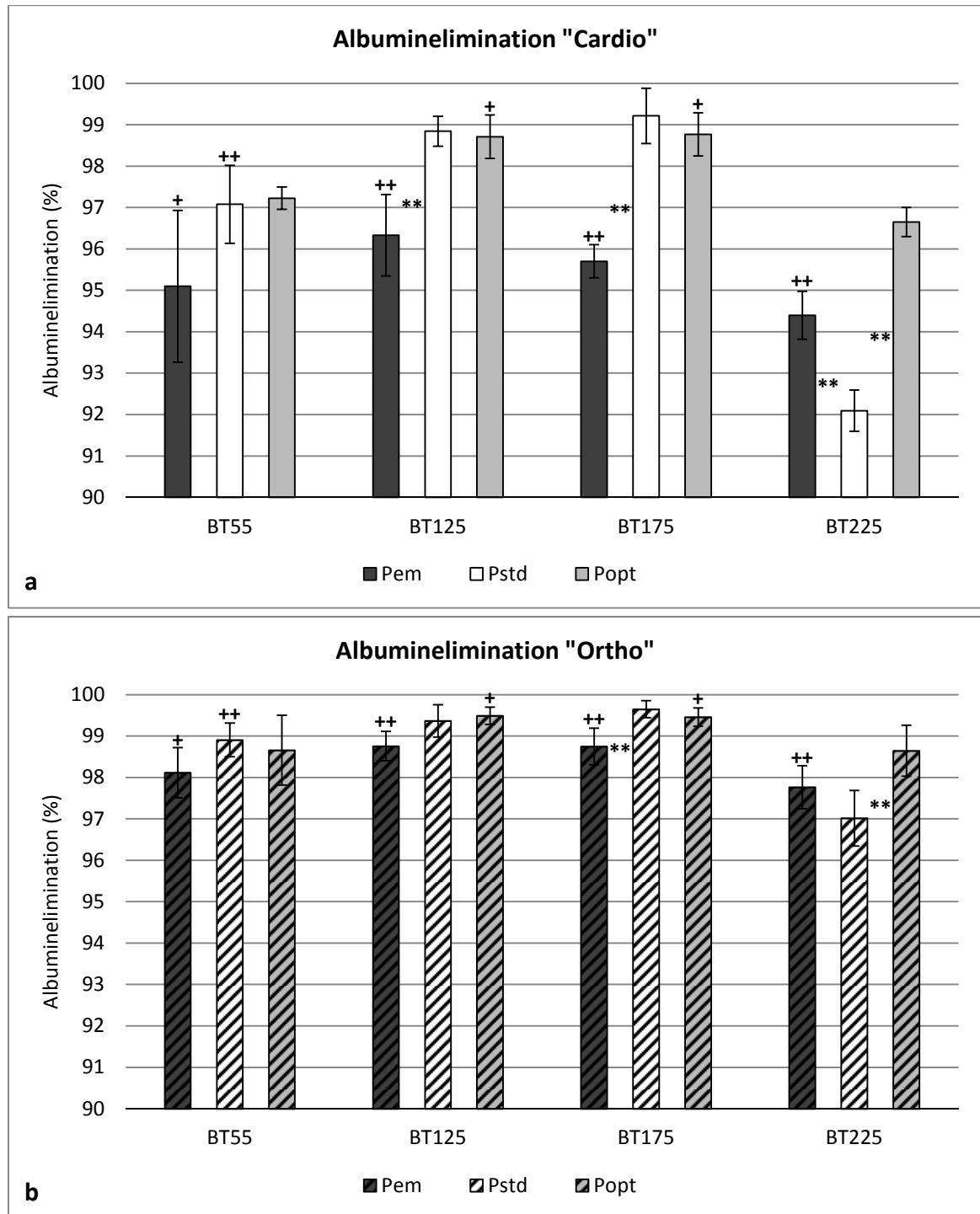


Abbildung 4-8. Albuminelimination. Prozentualer Anteil der Masse an Albumin, welcher durch den Waschvorgang aus dem Testblut entfernt wurde – in Abhängigkeit von der Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und dem jeweils gewählten Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.9 Elimination von freiem Hämoglobin

Die Elimination des freien Hämoglobins (fHb) gibt den prozentualen Anteil des freien Hämoglobins an, welcher durch den Waschvorgang aus dem verarbeiteten Testblut entfernt wird. Berechnet wurde diese Eliminationsrate über Volumen und Gehalt an freiem Hämoglobin des Plasmaanteils von verarbeitetem Testblut und erzeugtem Erythrozytenkonzentrat. Wie auch aus Abbildung 4-9 ersichtlich, erzielten die Glocken der verschiedenen Größen immer recht ähnliche Ergebnisse, sodass sich lediglich die 225-ml-Glocke signifikant von den fHb-Auswaschraten anderer Glocken unterschied. Insgesamt war dies viermal der Fall: einerseits unter der Verwendung von „Cardio“-Testblut im Standardprogramm gegenüber den Glocken BT55, BT125 und BT175 mit $P = 0,008$ für die beiden kleineren Glocken und $P = 0,032$ für die 175-ml-Glocke, andererseits beim Einsatz von „Ortho“-Testblut im Standardprogramm gegenüber der 175-ml-Glocke ($P = 0,009$).

Testblut „Cardio“

Beim Einsatz von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) lagen die Glocken BT125 und BT175 im Standardprogramm mit einer fHb-Auswaschraten von 96,3 bzw. 96,7 % beinahe gleichauf. Verglichen mit diesen beiden Glocken lag die Eliminationsrate des freien Hämoglobins der 55-ml-Glocke mit 95,1 % etwas, die der 225-ml-Glocke mit 90,1 % deutlich niedriger. Die relativen Standardabweichungen der Ergebnisse bewegten sich zwischen 2,1 und 3,3 % (BT55 bzw. BT175).

Ein Wechsel vom Standard- in den Popt-Modus führte in der 225-ml-Glocke zu einer hochsignifikanten Veränderung der fHb-Auswaschraten ($P = 0,008$), welche in dieser Glocke um 5,4 % auf 95,0 % anstieg. Insignifikant waren dagegen mit $P = 1,000$ die Erhöhungen der fHb-Auswaschraten in den Glocken BT55 und BT125 um 0,4 bzw. 0,1 % auf Mittelwerte von 95,5 bzw. 96,3 % und auch die Abnahme um 0,1 % auf einen Mittelwert von 96,6 %, die in der 175-ml-Glocke zu beobachten war, erwies sich mit $P = 0,421$ als nicht signifikant. Die relativen Standardabweichungen der fHb-Elimination, die im Programm

Popt unter Verwendung von „Cardio“-Testblut zu beobachten waren, bewegten sich zwischen 0,6 und 2,3 % (BT55 bzw. BT175).

Das Notfallprogramm „Pem“ führte im Vergleich mit dem Standardprogramm zu keiner signifikanten Veränderung der fHb-Auswaschrates. Dies galt mit $P = 0,095$ auch für die 225-ml-Glocke, die mit einer Steigerung der fHb-Auswaschrates um 2,2 % einen Mittelwert von 92,1 % erreichte, während die Glocken BT55, BT125 und BT175 Abnahmen der fHb-Auswaschrates um 1,7 %, 2,4 % und 4,1 % auf durchschnittlich 93,4 %, 94,0 % und 92,7 % vorzuweisen hatten. Die relativen Standardabweichungen lagen dabei zwischen 2,5 und 3,6 % (BT55 bzw. BT225).

Testblut „Ortho“

Lag den Versuchen „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) zugrunde, so fielen die beobachteten Eliminationsraten des freien Hämoglobins stets höher aus als bei den Versuchen mit „Cardio“-Testblut. Signifikant bzw. hochsignifikant war dieser Anstieg der Auswaschrates an freiem Hämoglobin allerdings nur in der 225-ml-Glocke in den Programmen Pem und Pstd ($P = 0,017$ bzw. $0,004$).

Im Standardprogramm lag die Eliminationsrate des freien Hämoglobins der Glocken BT125 und BT175 bei Verwendung von „Ortho“-Testblut um 0,9 bzw. 1,4 % höher als unter Einsatz von „Cardio“-Testblut, wodurch Mittelwerte von 97,1 bzw. 98,1 % erreicht wurden. Diese Steigerung der Elimination des freien Hämoglobins war jedoch mit $P = 0,548$ bzw. $0,310$ insignifikant – ebenso wie die Erhöhung um 2,1 % auf einen Mittelwert von 97,1 %, die in der Glocke BT55 zu beobachten war ($P = 0,095$). Als hochsignifikant gegenüber der Verwendung von „Cardio“-Testblut erwies sich im Standardprogramm mit $P = 0,004$ lediglich die Zunahme der fHb-Auswaschrates in der 225-ml-Glocke, welche 5,6 % betrug und zu einem Durchschnittswert von 95,2 % führte. Mit Werten zwischen 1,1 und 1,9 % (BT55 bzw. BT125) lag die relative Standardabweichung der fHb-Auswaschrates im Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut in den einzelnen Glocken stets unter jener, die bei der Verwendung von „Cardio“-Testblut zu beobachten war.

Setzte man im Programm Popt „Ortho“-Testblut statt „Cardio“-Testblut ein, so erhöhte sich die fHb-Auswaschrates in den Glocken BT125 und BT175 um 1,4 bzw. 1,3 % auf Durchschnittswerte von 97,7 bzw. 97,8 % und in den Glocken BT55 und BT225 um 1,7 bzw. 0,9 % auf Werte von 97,1 bzw. 95,9 %. Signifikant waren jedoch weder die Zunahmen der Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,421$ bzw. $0,095$, noch jene der Glocken BT55 und BT225 mit jeweils $P = 0,082$. Im Vergleich mit dem Standardprogramm lieferte das Programm Popt unter Verwendung von „Ortho“-Testblut keine signifikanten Veränderungen in der Eliminationsrate des freien Hämoglobins: Weder die in der 175-ml-Glocke zu beobachtende Abnahme um 0,3 % auf durchschnittlich 97,8 % ($P = 0,841$), noch die Zunahmen in den Glocken BT55, BT125 und BT225 um 0,1 %, 0,6 % und 0,8 % auf Mittelwerte von 97,1 %, 97,7 % und 95,9 % waren mit $P \geq 0,240$ von Signifikanz. In den Glocken BT55, BT125 und BT175 betrugen die relativen Standardabweichungen bezüglich der Elimination des freien Hämoglobins im Programm Popt unter Verwendung von „Ortho“-Testblut 1,4 %, 1,0 % und 1,3 %, während die 255-ml-Glocke einen Variationskoeffizienten von 3,6 % aufzuweisen hatte.

Im Pem-Modus erzielte die 225-ml-Glocke unter Verwendung von „Ortho“-Testblut eine gegenüber den Testläufen mit „Cardio“-Testblut signifikante ($P = 0,017$) Erhöhung der fHb-Auswaschrates um 3,7 % auf durchschnittlich 95,5 %, während die 175-ml-Glocke mit $P = 0,056$ bei einer Zunahme der fHb-Eliminationsrate um 4,3 % auf 96,7 % das Signifikanzniveau knapp verfehlte. Mit $P = 0,151$ bzw. $0,310$ lagen die Glocken BT55 und BT125 bei Erhöhungen der fHb-Eliminationsraten um 2,2 bzw. 2,9 % gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut weit oberhalb der Schwelle des Signifikanzniveaus. Im Hinblick auf die fHb-Auswaschrates konnte sich das Notfallprogramm „Pem“ gegenüber dem Standardprogramm nie signifikant absetzen: Weder die Abnahmen der Auswaschrates an freiem Hämoglobin in den Glocken BT55, BT125 und BT175 um 1,6 %, 0,4 % und 1,4 % auf 95,5 %, 96,7 % und 96,7 %, noch die Zunahme dieser Auswaschrates in der Glocke BT255 um 0,4 % auf 95,5 % waren von statistischer Signifikanz. Die relativen Standardabweichungen der Eliminationsrate des freien Hämoglobins im Notfallprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut lagen zwischen 1,7 und 2,8 % (BT125 bzw. BT55).

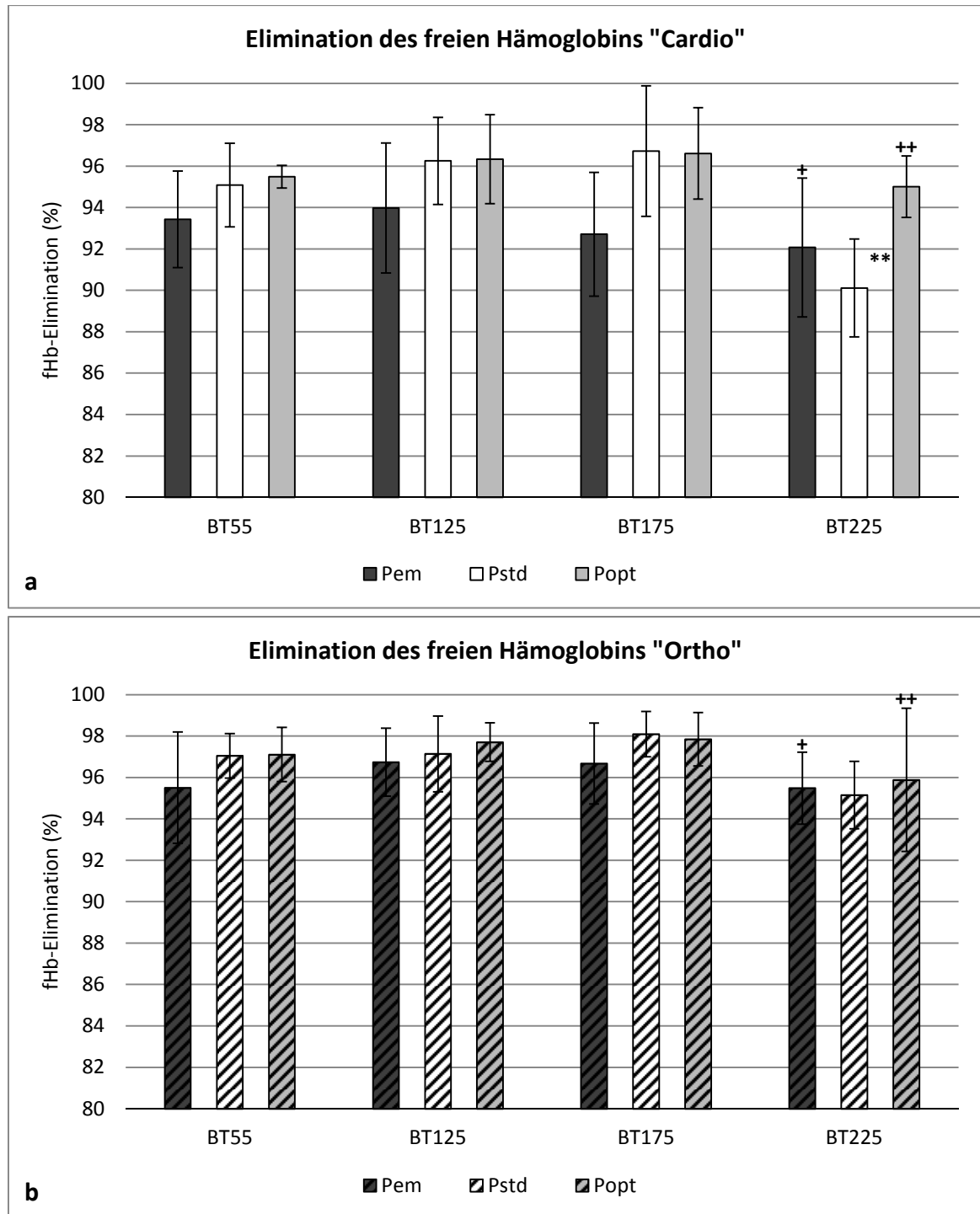


Abbildung 4-9. Elimination des freien Hämoglobins. Prozentualer Anteil der Masse an freiem Hämoglobin (fHb), welcher durch den Waschvorgang aus dem Testblut entfernt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.10 Kaliumelimination

Der prozentuale Anteil an Kalium, den das MAT-Gerät aus dem zu verarbeitenden Testblut wäscht, wird als Kaliumelimination oder -auswaschrates bezeichnet. Zur Berechnung dieser Eliminationsrate wurden die Volumina sowie die Kaliumkonzentrationen des Plasmaanteils des verarbeiteten Testbluts und des gewonnenen Erythrozytenkonzentrats herangezogen. Abbildung 4-10 bietet eine übersichtliche Darstellung der so ermittelten Ergebnisse.

Insgesamt erzielte die Kaliumauswaschrates für die Glocken BT55, BT125 und BT175 bei allen Programmen sowie beiden Arten von Testblut sehr ähnliche Ergebnisse, sodass zwischen diesen Glocken hinsichtlich der Kaliumelimination keine signifikanten Unterschiede auszumachen waren. Welche Art von Testblut verwendet wurde hatte bei diesen Glocken ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Kaliumeliminationsraten der einzelnen Programme. Ebenso setzte sich in den Glocken BT55 und BT125 weder das auf Zeit und Hämatokrit optimierte Programm Popt, noch das Notfallprogramm „Pem“ signifikant vom Standardprogramm „Pstd“ ab, während das Notfallprogramm der 175-ml-Glocke beim Einsatz von „Cardio“-Testblut eine signifikant ($P = 0,016$) niedrigere Kaliumauswaschrates vorzuweisen hatte als das Standardprogramm. Andererseits zeigte die 225-ml-Glocke im Standardprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut eine hochsignifikant ($P = 0,008$) niedrigere Kaliumauswaschrates als alle anderen Glocken und blieb beim Einsatz von „Ortho“-Testblut zumindest im Notfallprogramm mit ihrer Kaliumeliminationsrate hochsignifikant ($P = 0,004$) unter jener der 175-ml-Glocke. Des Weiteren war in der 225-ml-Glocke bei Verwendung von „Cardio“-Testblut eine hochsignifikante ($P = 0,008$) Differenz der Kaliumauswaschrates zwischen den Programmen Pstd und Popt zu beobachten – beim Einsatz von „Ortho“-Testblut erwies sich diese Differenz mit $P = 0,041$ immerhin als signifikant. Darüber hinaus wurde in der 225-ml-Glocke im Notfall- sowie im Standardprogramm beim Einsatz von „Ortho“-Testblut eine signifikant bzw. hochsignifikant ($P = 0,030$ bzw. $0,004$) höhere Kaliumauswaschrates erzielt als bei Verwendung von „Cardio“-Testblut. Die Schwankungsbreite der Ergebnisse der Kalium-

elimination lag mit relativen Standardabweichungen zwischen 0,6 und 3,2 % bei einem Mittelwert von 1,5 % deutlich über jener, die sich bei der Protein- oder Albuminelimination mit Durchschnittswerten von 0,4 bzw. 0,6 % fand.

Testblut „Cardio“

Das Standardprogramm erzielte beim Einsatz von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) in den Glocken BT55, BT125 und BT175 Kaliumauswaschraten von 95,4 %, 95,6 % und 95,7 %. Dagegen lag die Kaliumelimination der 225-ml-Glocke mit 90,7 % hochsignifikant ($P = 0,008$) niedriger als in allen anderen Glocken. Die relativen Standardabweichungen der Kaliumelimination lagen im Standardprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut zwischen 1,1 und 1,6 % (BT175 bzw. BT125).

Das Programm Popt erzielte unter dem Einsatz von „Cardio“-Testblut in den Glocken BT55 und BT175 Kaliumauswaschraten, die um 0,2 % unter jenen des Standardprogramms lagen, was zu Mittelwerten von 95,2 bzw. 95,6 % führte. In den Glocken BT125 und BT225 war hingegen eine Zunahme der Kaliumelimination um 0,2 bzw. 4,4 % auf durchschnittlich 95,8 bzw. 94,6 % festzustellen. Als hochsignifikant erwies sich dabei mit $P = 0,008$ lediglich die Zunahme der 225-ml-Glocke, während die Differenzen der anderen Glocken das Signifikanzniveau von 5 % verfehlten. Die relativen Standardabweichungen der Kaliumelimination bewegten sich im Programm Popt beim Einsatz von „Cardio“-Testblut zwischen 0,7 und 2,2 % (BT225 bzw. BT55).

Das Notfallprogramm „Pem“ erzielte unter Verwendung von „Cardio“-Testblut in den Glocken BT55, BT125 und BT175 Kaliumauswaschraten, die mit 93,9 %, 93,9 % und 93,5 % um 1,5 %, 1,8 % und 2,3 % unter den Eliminationsraten des Standardprogramms lagen. In der 225-ml-Glocke zeigte sich demgegenüber eine Erhöhung der Kaliumauswaschrates um 1,0 %, die zu einem Mittelwert von 91,5 % führte. Das Programm Pem wies unter Verwendung von „Cardio“-Testblut relative Standardabweichungen der Kaliumelimination auf, die zwischen 1,3 und 2,3 % lagen (BT175 bzw. BT55).

Testblut „Ortho“

Eine Umstellung des Testbluts von „Cardio“ auf „Ortho“ (Hämatokrit = 10 %) äußerte sich im Standardprogramm bei den Glocken BT125 und BT175 in einer Zunahme der Kaliumauswaschrates um 0,2 % bzw. 0,1 % auf Mittelwerte von 95,8 % bzw. 95,9 %, während die Kaliumauswaschrates der 55-ml-Glocke um 1,4 % auf durchschnittlich 94,1 % sank. Diese genannten Veränderungen der Kaliumauswaschrates waren mit $P \geq 0,841$ jedoch nicht von Signifikanz, wohingegen sich die Zunahme der Kaliumelimination der 225-ml-Glocke um 4,0 % auf durchschnittlich 94,3 % mit $P = 0,004$ als hochsignifikant erwies. Die Schwankungsbreite der Ergebnisse sank mit zunehmender Glockengröße: Während die relative Standardabweichung der 225-ml-Glocke bei 0,8 % lag, betrug sie in den Glocken BT175 und BT125 1,2 bzw. 1,7 % und in der 55-ml-Glocke 3,2 %.

Die Kaliumelimination, welche im Programm Popt unter Verwendung von „Ortho“-Testblut erzielt wurde, unterschied sich in den Glocken BT55 und BT125 nicht von jener, die mit „Cardio“-Testblut erzielt wurde. In den Glocken BT175 und BT225 waren demgegenüber Zunahmen der Kaliumeliminationsraten um 0,2 bzw. 1,0 % zu verzeichnen, die sich jedoch mit $P = 0,690$ bzw. $0,082$ als nicht signifikant erwiesen. Mit 95,2 bzw. 95,6 % erzielten die Glocken BT55 und BT225 im Vergleich mit dem Standardprogramm unter Einsatz von „Ortho“-Testblut um 1,2 bzw. 1,4 % höhere Kaliumeliminationsraten, während die Glocken BT125 und BT175 Abnahmen der Kaliumauswaschrates um 0,1 % auf Mittelwerte von 95,8 % zu verzeichnen hatten. Die relativen Standardabweichungen der Kaliumelimination bewegten sich im Programm Popt unter Verwendung von „Ortho“-Testblut zwischen 1,1 und 1,5 % (BT175 bzw. BT125).

Das Notfallprogramm „Pem“ lieferte beim Einsatz von „Ortho“-Testblut, verglichen mit den Versuchen mit „Cardio“-Testblut, lediglich in der 225-ml-Glocke eine signifikante ($P = 0,030$) Erhöhung der Kaliumauswaschrates, welche in diesem Falle 2,1 % betrug und zu einem Mittelwert von 93,4 % führte. In den Glocken BT55, BT125 und BT175 zeichneten sich zwischen den verschiedenen Arten an Testblut bei Zunahmen um 1,5 %, 0,7 % und 1,9 % auf durchschnittlich 95,3 %, 94,5 % bzw. 95,3 % keine signifikanten Unterschiede ab ($0,056 \leq P \leq 0,548$). Gegenüber dem Standardprogramm wies die 55-ml-

Glocke bei der Verwendung von „Ortho“-Testblut im Notfallprogramm eine Verringerung der Kaliumauswaschrates um 1,5 % auf, während die Glocken BT125, BT175 und BT225 Zunahmen um 0,7 %, 1,9 % und 2,1 % zu verzeichnen hatten. Von Signifikanz war diese Zunahme mit $P = 0,016$ lediglich in der 175-ml-Glocke. Die relativen Standardabweichungen der Kaliumelimination im Programm Pem unter Verwendung von „Ortho“-Testblut lagen zwischen 0,6 und 1,8 % (BT225 bzw. BT125). Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander wiesen im Notfallprogramm beim Einsatz des Testbluts „Ortho“ lediglich die 225- und die 175-ml-Glocke einen mit $P = 0,004$ hochsignifikanten Unterschied in der Kaliumauswaschrates auf, während die Glocken BT225 und BT55 das Signifikanzniveau von 5 % mit $P = 0,052$ nur knapp verfehlten.

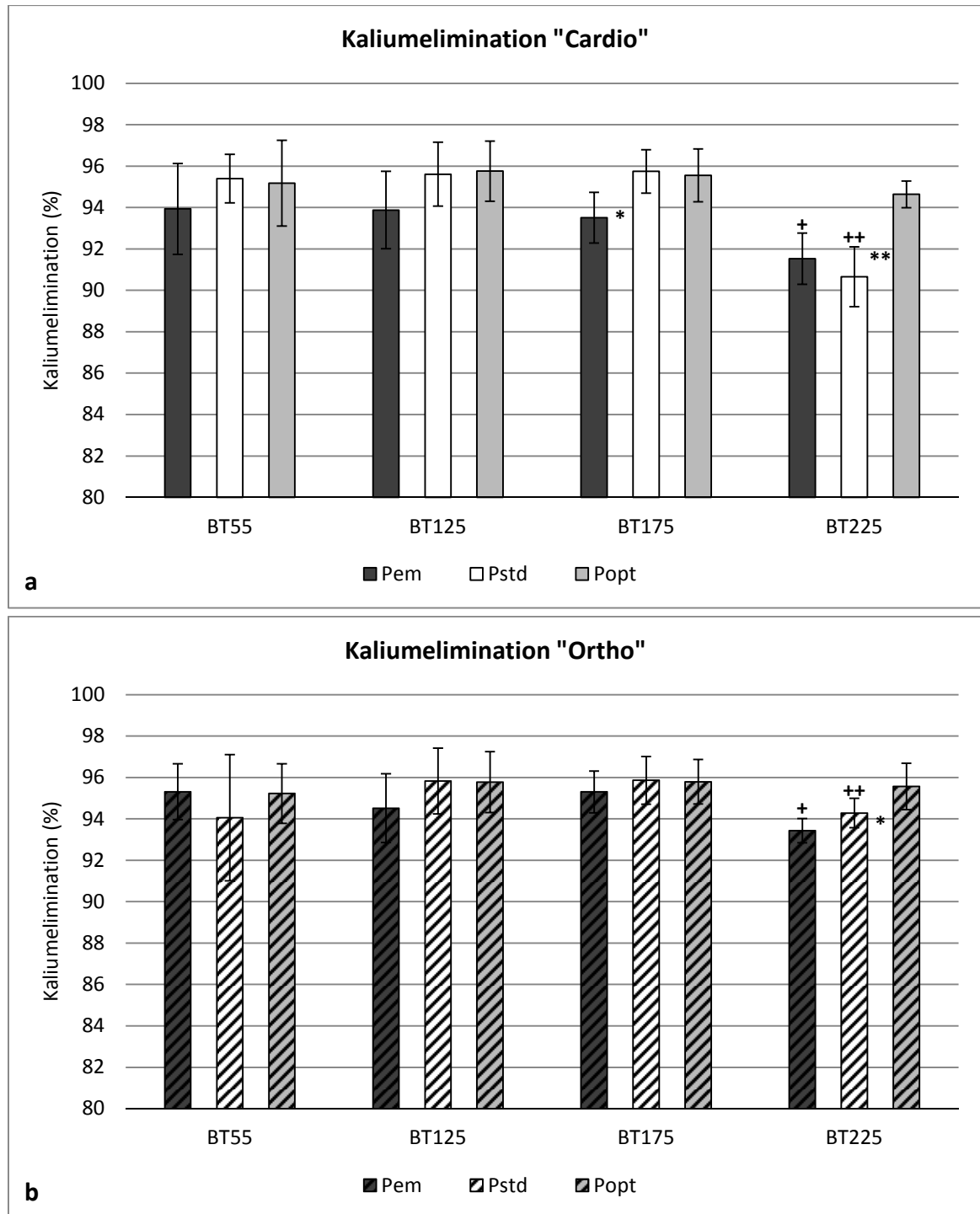


Abbildung 4-10. Kaliumelimination. Prozentualer Anteil der Stoffmenge an Kaliumionen, welcher durch den Waschvorgang aus dem Testblut entfernt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Benutzung des jeweils anderen Testbluts. **a** Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.1.11 Heparinelimination

Die Heparinelimination oder -auswaschrates gibt den prozentualen Anteil des Heparins an, der im Laufe des Waschvorgangs aus dem verarbeiteten Testblut entfernt wird. Berechnet wurde diese Auswaschrates über Volumen und Heparinegehalt des Plasmaanteils von verarbeitetem Testblut und erzeugtem Erythrozytenkonzentrat. Einen Überblick über die ermittelten Heparineliminationsraten bietet Abbildung 4-11.

Testblut „Cardio“

Beim Einsatz von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) lag die Heparinelimination des Standardprogramms in der 125-ml-Glocke mit 99,8 % am höchsten und in der 175-ml-Glocke mit 99,7 % insignifikant ($P = 0,056$) niedriger. Während die 55-ml-Glocke mit einer Heparinauswaschrates von durchschnittlich 99,0 % nochmals leicht unter diesen Werten lag, zeigte die 225-ml-Glocke mit 96,7 % gegenüber den anderen Glockengrößen einen deutlichen Abfall der Eliminationsrate. Da die Heparinkonzentration des Erythrozytenkonzentrates der Glocken BT125 und BT175 im Standardprogramm beim Einsatz von „Cardio“-Testblut bei sämtlichen Versuchen unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 IE/ml lag, ergaben sich für diese Glocken relative Standardabweichungen der Heparinelimination von 0,1 bzw. sogar unter 0,1 %. Die relativen Standardabweichungen der Glocken BT55 und BT225 lagen bei 0,4 bzw. 0,7 %. Vergleich man die unterschiedlichen Glockengrößen im Standardprogramm unter Verwendung von „Cardio“-Testblut untereinander hinsichtlich der Heparinelimination, so ergab sich lediglich für die Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,056$ kein signifikanter Unterschied, während alle anderen Kombinationen an Glockengrößen mit $P = 0,008$ stets hochsignifikante Differenzen vorzuweisen hatten.

Das Programm Popt wies unter Verwendung von „Cardio“-Testblut in den Glocken BT125 und BT175 mit Werten von 99,9 bzw. 99,8 % praktisch die gleichen Heparinauswaschrates wie das Standardprogramm auf und auch die Abnahme der Heparinelimination gegenüber dem Standardprogramm um 0,3 % auf 98,7 % in der 55-ml-Glocke war

mit $P = 0,310$ nicht von Signifikanz. Als hochsignifikant erwies sich demgegenüber mit $P = 0,008$ die Steigerung der Heparinelimination um 2,0 %, die die 225-ml-Glocke vorzuweisen hatte und welche zu einem Mittelwert von 98,6 % führte. Die relativen Standardabweichungen der Heparinelimination der Glocken BT125 und BT175 erwiesen sich im Programm Popt mit knapp unter bzw. über 0,1 % als äußerst gering, was auch im Standardprogramm zu beobachten war. Etwas höher lagen die relativen Standardabweichungen der Glocken BT55 und BT225 mit 0,4 bzw. 0,6 %. Beim Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander zeigte sich, dass im Programm Popt unter Verwendung von „Cardio“-Testblut keine signifikanten Unterschiede in der Heparinelimination der Glocken BT55 und BT225 sowie der Glocken BT125 und BT175 bestanden ($P = 0,841$ bzw. $0,151$) – alle anderen Kombinationen an Glockengrößen wiesen mit $P = 0,008$ hochsignifikante Differenzen auf.

Ein Wechsel vom Standardprogramm in das Notfallprogramm führte bei Verwendung von „Cardio“-Testblut in den Glocken BT125 und BT175 zu einer hochsignifikanten ($P = 0,008$) Abnahme der Heparinelimination um 0,9 bzw. 1,3 % auf Durchschnittswerte von 98,9 bzw. 98,4 %. In der 55-ml-Glocke war ebenfalls ein Abfall der Heparinelimination um 1,0 % zu verzeichnen – dieser war mit $P = 0,016$ allerdings nicht hochsignifikant. Als insignifikant erwies sich mit $P = 0,095$ die Zunahme der Heparinelimination der 225-ml-Glocke, welche 1,0 % betrug und zu einem Durchschnittswert von 97,7 % führte. Die Schwankungsbreite der Ergebnisse der Heparinelimination bewegte sich im Notfallprogramm bei Verwendung von „Cardio“-Testblut mit relativen Standardabweichungen zwischen 0,4 und 0,7 % (BT125 bzw. BT55) für alle Glockengrößen auf einem recht ähnlichen Niveau. Verglich man die verschiedenen Glockengrößen im Notfallprogramm bei Verwendung von „Cardio“-Testblut miteinander, so zeigte sich hinsichtlich der Heparinelimination lediglich zwischen den Glocken BT125 und BT225 ein signifikanter Unterschied ($P = 0,016$), während alle anderen Kombinationen nur insignifikante Differenzen aufwiesen ($P \geq 0,095$).

Testblut „Ortho“

Kam statt Testblut vom Typ „Cardio“ solches vom Typ „Ortho“ (Hämatokrit = 10 %) zum Einsatz, so führte das mit Ausnahme von vier Fällen zu einer hochsignifikanten Zunahme der Heparinelimination. Besagte Ausnahmen umfassten im Standardprogramm die Glocken BT125 und BT175, die mit $P = 0,690$ bzw. $0,151$ insignifikante Zu- bzw. Abnahmen der Heparinelimination zu verzeichnen hatten. Die beiden anderen Ausnahmen betrafen das Programm Popt: Während in diesem Programm die 125-ml-Glocke mit $P = 0,421$ weit über der Schwelle des Signifikanzniveaus lag, verpasste die 175-ml-Glocke diese Schwelle von 5 % mit $P = 0,056$ nur knapp.

Im Standardprogramm zeigten sich beim Einsatz von „Ortho“-Testblut im Vergleich zur Verwendung von „Cardio“-Testblut neben der insignifikanten Zu- bzw. Abnahme der Heparinauswaschrates der Glocken BT125 und BT175 um 0,1 bzw. 0,2 % auf durchschnittlich 99,9 bzw. 99,5 % auch zwei mit $P = 0,008$ bzw. $0,004$ hochsignifikante Zunahmen in den Glocken BT55 und BT225 um 0,8 bzw. 2,6 % auf Mittelwerte von 99,8 bzw. 99,2 %. Die relative Standardabweichung der Heparinelimination im Standardprogramm unter Einsatz von „Ortho“-Testblut lag in der 125-ml-Glocke mit 0,01 % extrem niedrig und erzielte auch in der 55-ml-Glocke mit 0,1 % einen sehr niedrigen Wert, von dem sich die Glocken BT175 und BT225 mit Variationskoeffizienten von 0,9 bzw. 0,3 % deutlich abhoben. In der 175-ml-Glocke ließ sich die relativ hohe Standardabweichung jedoch auf das Ergebnis einer einzigen von insgesamt fünf Proben zurückführen, ohne dem der Variationskoeffizient lediglich 0,04 % betragen hätte. Verglich man die verschiedenen Glockengrößen im Standardprogramm unter Verwendung von „Ortho“-Testblut hinsichtlich der Heparinelimination miteinander, so zeigte sich, dass lediglich die 175-ml-Glocke gegenüber den restlichen Glocken mit $0,126 \leq P \leq 0,548$ keine signifikanten Differenzen aufzuweisen hatte, wohingegen sich die Glocken BT55, BT125 und BT225 stets hochsignifikant voneinander unterschieden.

Das Programm Popt erreichte mit „Ortho“-Testblut tendenziell höhere Heparineliminationsraten als mit „Cardio“-Testblut. So war bei den Glocken BT55 und BT225 gegenüber den Versuchen mit „Cardio“-Testblut eine hochsignifikante ($P = 0,004$) Zu-

nahme der Heparinelimination auszumachen, die sich auf 1,0 bzw. 1,1 % belief, während die in der 175-ml-Glocke zu beobachtende Steigerung um 0,2 % das Signifikanzniveau von 5 % mit $P = 0,056$ knapp verfehlte. In der 125-ml-Glocke hingegen war im Popt-Modus zwischen der Verwendung von „Cardio“- oder „Ortho“-Testblut kein signifikanter Unterschied festzustellen ($P = 0,421$). Verglichen mit dem Standardprogramm erreichte das Programm Popt beim Einsatz von „Ortho“-Testblut lediglich in der 225-ml-Glocke eine mit $P = 0,004$ hochsignifikante Zunahme der Heparineliminationsrate um 0,6 % auf einen Mittelwert von 99,8 %. Die Erhöhung der Heparinauswaschrates um 0,4 % auf durchschnittlich 99,9 %, welche die 175-ml-Glocke im Programm Popt gegenüber dem Standardprogramm aufzuweisen hatte, erwies sich demgegenüber mit $P = 0,222$ als nicht signifikant und auch die in der 55-ml-Glocke zu beobachtende Abnahme besagter Eliminationsrate um 0,1 % auf 99,7 % war mit $P = 0,177$ nicht von Signifikanz. In der 125-ml-Glocke war bei Verwendung von „Ortho“-Testblut mit einem Mittelwert von 99,9 % kein Unterschied zwischen den Heparinauswaschraten des Standardprogramms und des Programms Popt auszumachen. Die relativen Standardabweichungen lagen im Programm Popt beim Einsatz von „Ortho“-Testblut in den Glocken BT55 und BT225 bei 0,2 % und bei den Glocken BT125 und BT175 unter 0,1 %. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander wies das Programm Popt bei Verwendung von „Ortho“-Testblut hinsichtlich der Heparineliminationsrate in den Glocken BT55 und BT225 sowie den Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,699$ bzw. $0,421$ keine signifikanten Differenzen auf, während die Glocken BT125 und BT225 das Signifikanzniveau mit $P = 0,052$ nur knapp verfehlten und die restlichen Kombinationen an Glockengrößen signifikante (BT175 und BT225) oder hochsignifikante Unterschiede zu verzeichnen hatten.

Stand bei Aktivierung des Notfallprogramms „Pem“ „Ortho“-Testblut statt „Cardio“-Testblut zur Verfügung, so führte dies stets zu einer hochsignifikanten Erhöhung der Heparinelimination. Die geringste Zunahme verzeichnete dabei mit 1,0 % die 125-ml-Glocke, während sich die Heparinelimination der Glocken BT55 und BT175 im Vergleich zu den Versuchen unter Einsatz von „Cardio“-Testblut um 1,6 bzw. 1,4 % erhöhte. Am höchsten war die Steigerung der Heparinauswaschrates der 225-ml-Glocke, welche sich auf

1,9 % belief. Ein Wechsel vom Standard- auf das Notfallprogramm führte in keiner der Glocken zu einer signifikanten Veränderung der Heparinauswaschrates: Weder die Zunahmen um 0,3 % auf durchschnittlich 99,8 bzw. 99,5 %, die in den Glocken BT175 und BT225 zu beobachten waren ($P = 0,421$ bzw. $0,065$), noch die Abnahmen um 0,2 bzw. 0,1 % auf 99,6 bzw. 99,8 %, welche die Glocken BT55 und BT125 aufzuweisen hatten ($P = 0,095$ bzw. $0,151$), waren von statistischer Signifikanz. Mit relativen Standardabweichungen zwischen 0,1 und 0,3 % (BT175 bzw. BT55) lag die Schwankungsbreite der Ergebnisse der Heparinelimination im Notfallprogramm unter Verwendung des Testbluts „Ortho“ auf einem recht einheitlichen Niveau. Im Vergleich der verschiedenen Glockengrößen untereinander wies im Notfallprogramm beim Einsatz von „Ortho“-Testblut lediglich die 225-ml-Glocke gegenüber den Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,004$ hochsignifikante Unterschiede auf – die restlichen Kombinationen an Glockengrößen zeigten mit $P \geq 0,056$ keine signifikanten Differenzen.

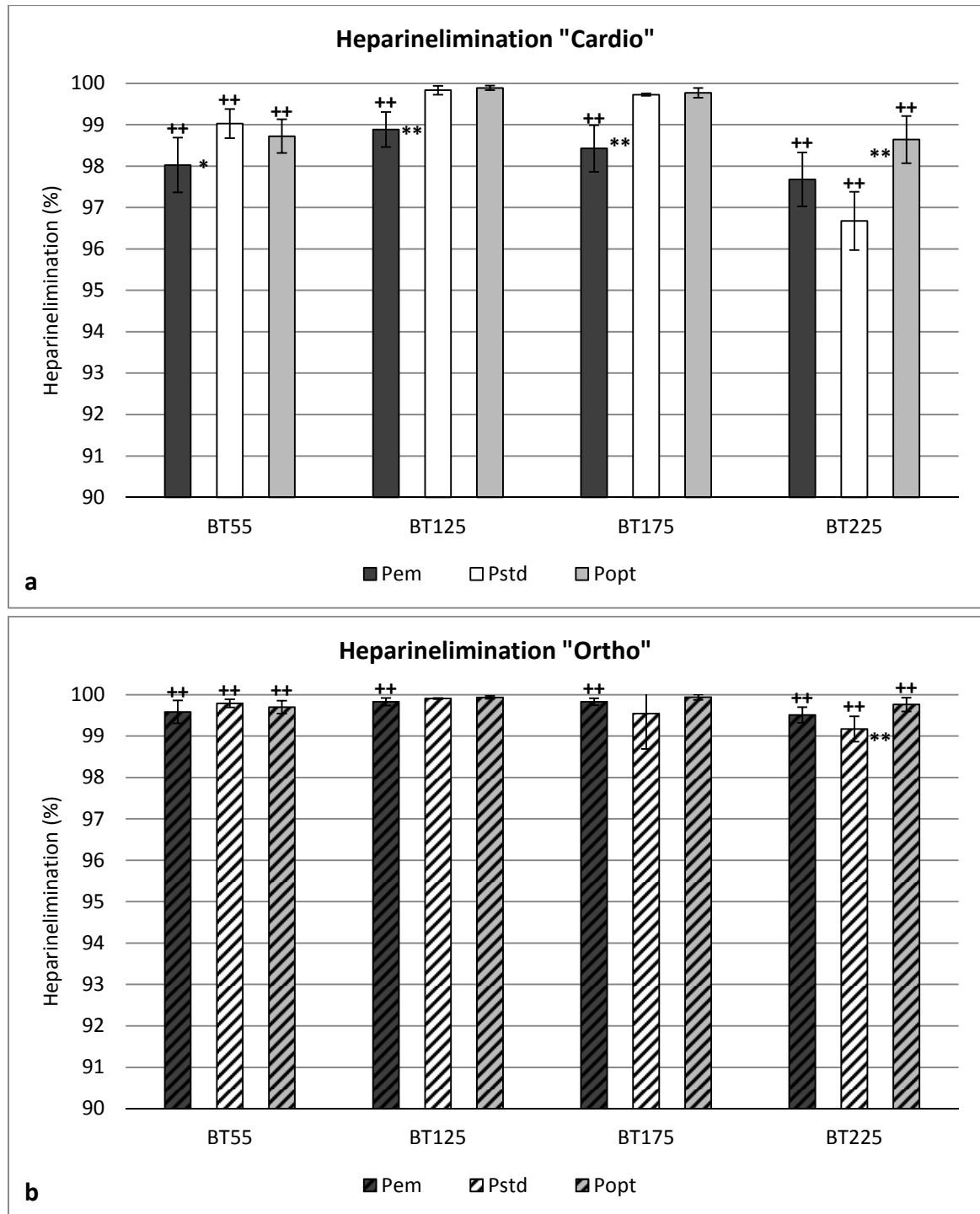


Abbildung 4-11. Heparinelimination. Prozentualer Anteil der Internationalen Einheiten (IE) an Heparin, welcher durch den Waschvorgang aus dem Testblut entfernt wurde – in Abhängigkeit von Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) und gewähltem Aufbereitungsprogramm (Pstd: Standardprogramm; Pem: Notfallprogramm; Popt: Programm zur Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit). Sternchen zwischen den Säulen markieren signifikante (* für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (** für $P < 0,01$) Unterschiede zwischen den jeweils angrenzenden Programmen, Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+) und hochsignifikante (++) Differenzen gegenüber der Verwendung des jeweils anderen Testbluts.
a Testblut „Cardio“ mit 25 % Hämatokrit. **b** Testblut „Ortho“ mit 10 % Hämatokrit

4.2 Maschinelle Aufbereitung von Thrombozyten

4.2.1 Thrombozytenausbeute

Die Thrombozytenausbeute gibt an, welcher Prozentsatz der im verarbeiteten Testblut vorhandenen Thrombozyten im gewonnenen buffy coat plasma (BCP) wiederzufinden war. Zur Bestimmung dieses Parameters wurden die gemessenen Volumina und die Thrombozytenkonzentrationen des verarbeiteten Testbluts sowie des gewonnenen BCP herangezogen. Eine graphische Darstellung der so ermittelten Thrombozytenausbeuten bietet Abbildung 4-12.

Electa

Mit durchschnittlich 49,6 % umfasste die Thrombozytenausbeute im BCP Werte von 43,6 bis 62,8 %. Dabei erreichte die 225-ml-Glocke mit 62,8 % die höchste Ausbeute, was mit $P = 0,016$ bzw. $0,032$ eine signifikante Zunahme gegenüber den Ergebnissen der Glocken BT55 und BT175 darstellte, welche Mittelwerte von 48,1 bzw. 43,9 % vorzuweisen hatten. Die 125-ml-Glocke lag zwar mit einem Durchschnittswert von 43,6 % auf demselben Niveau wie die 175-ml-Glocke, die Differenz in der Thrombozytenausbeute gegenüber der 225-ml-Glocke konnte in dieser Glocke jedoch mit $P = 0,095$ nicht das Signifikanzniveau von 5 % erreichen. Ebenso erwiesen sich die Unterschiede der Glocken BT55, BT125 und BT175 mit $P \geq 0,841$ untereinander als nicht signifikant. Die relativen Standardabweichungen der Ergebnisse der Thrombozytenausbeute lagen zwischen 12,8 und 37,7 % (BT225 bzw. BT125), wobei die Glocken BT55 und BT175 Variationskoeffizienten von 20,0 bzw. 26,1 % erreichten.

Xtra®

Die Thrombozytenausbeute im BCP umfasste bei einem Mittelwert von 47,3 % einen Bereich von 39,1 bis 64,4 %. Am höchsten war die Ausbeute mit durchschnittlich 64,4 % bei der 225-ml-Glocke – einem Wert, der mit $P = 0,008$ hochsignifikant über denen der ande-

ren Glocken lag. Die Glocken BT55, BT125 und BT175 zeigten mit Thrombozytenausbeuten von 41,6 %, 39,1 % und 44,1 % untereinander mit $0,095 \leq P \leq 0,548$ keine signifikanten Unterschiede. Mit Werten von 11,9 und 12,0 % für die Glocken BT125 bzw. BT175 sowie 14,8 und 15,7 % für die Glocken BT55 bzw. BT225 lagen die relativen Standardabweichungen der Ergebnisse der Thrombozytenausbeute für alle Glocken auf einem recht ähnlichen Niveau.

Verglichen mit der Electa lieferte die Xtra® in den Glocken BT55 und BT125 um 13,5 bzw. 10,4 % niedrigere Thrombozytenausbeuten, während sie in den Glocken BT175 und BT225 um 0,5 bzw. 2,6 % höhere Ergebnisse erzielte. Mit $0,310 \leq P \leq 1,000$ (BT55 bzw. BT225) waren die Unterschiede in der Thrombozytenausbeute zwischen Electa und Xtra® jedoch stets insignifikant.

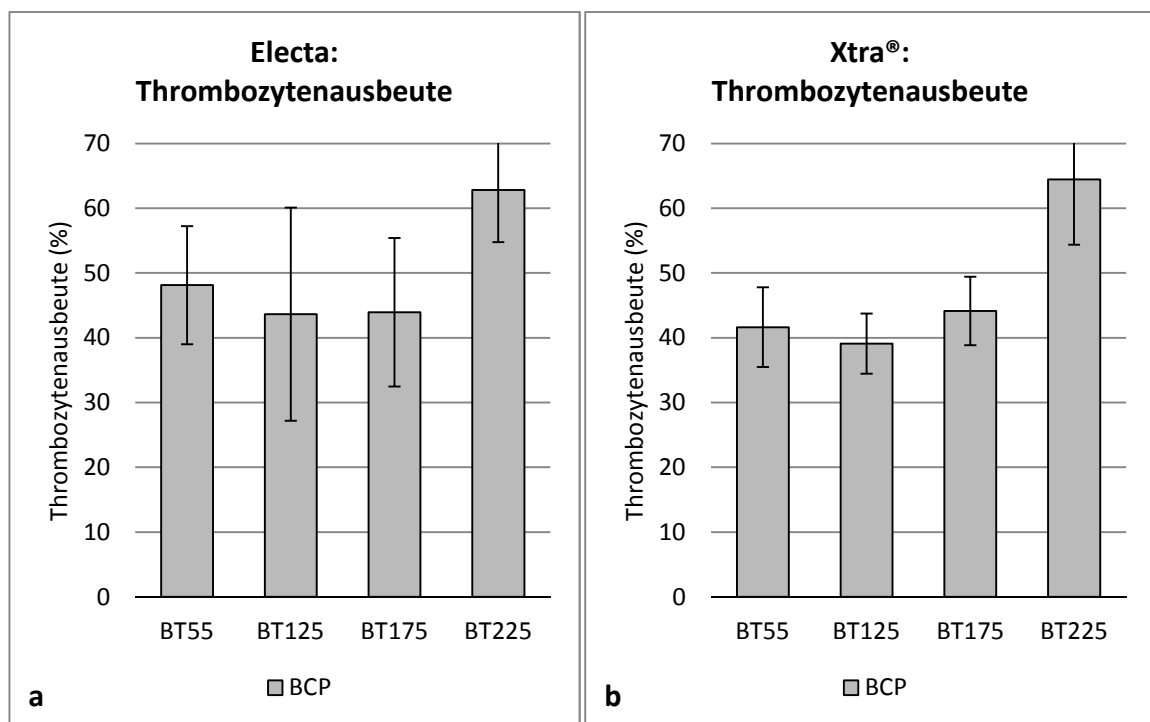


Abbildung 4-12. Thrombozytenausbeute. Prozentsatz an Thrombozyten, welcher durch den Apheresevorgang vom Testblut in das buffy coat plasma (BCP) überführt wurde – in Abhängigkeit der Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225). **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

4.2.2 Thrombozytenanreicherung

Electa

Durch die Apherese konnte die Thrombozytenkonzentration von durchschnittlich 243 /nl im Testblut auf 1.481 /nl im buffy coat plasma (BCP) gesteigert werden. Im Einzelnen ergaben sich dabei Werte von 1.088 (BT55), 1.322 (BT125), 1.694 (BT175) und 1.819 /nl (BT225). Bei Variationskoeffizienten von 14,0 % (BT55), 16,7 % (BT125), 29,5 % (BT175) und 13,4 % (BT225) erwiesen sich die Unterschiede der Thrombozytenkonzentration zwischen den Glocken BT55 und BT175 sowie zwischen den Glocken BT125 und BT225 mit $P = 0,016$ als signifikant und zwischen den Glocken BT55 und BT225 mit $P = 0,008$ als hochsignifikant. Abbildung 4-13 gibt einen Überblick über die Gesamtzahl an Thrombozyten, welche im verarbeiteten Testblut bzw. in den daraus erzeugten Produkten vorlag.

Mit steigender Glockengröße erhöhten sich so die Thrombozytenkonzentrationen im BCP im Mittel auf das 4,7-, 6,0-, 7,4- und 7,9-fache der Konzentrationen, welche im Testblut vorlagen (vergleiche hierzu Abbildung 4-14a). Die relativen Standardabweichungen der Ergebnisse betrugen dabei für die Glocken BT55 und BT225 14,9 bzw. 12,4 %, für die 175-ml-Glocke 25,9 % und für die 125-ml-Glocke 34,2 %. Vergleich man die verschiedenen Glockengrößen hinsichtlich dieser Erhöhung der Thrombozytenkonzentration, so erzielte die 225-ml-Glocke gegenüber der 55-ml-Glocke eine mit $P = 0,008$ hochsignifikant höhere Rate, während der Unterschied zwischen den Glocken BT175 und BT55 mit $P = 0,056$ das Signifikanzniveau von 5 % nicht erreichte. Alle anderen Kombinationen an Glockengrößen wiesen hinsichtlich dieser Rate mit $P \geq 0,222$ keine signifikanten Differenzen auf.

Xtra®

Ausgehend von durchschnittlich 176 Thrombozyten pro Nanoliter im Testblut stieg deren Konzentration im BCP auf 782 (BT55), 904 (BT125), 1.309 (BT175) und 1.441 /nl (BT225) an, was zu einem Mittelwert von 1.109 /nl führte. Bei relativen Standardabweichungen von 13,1 % (BT55), 13,2 % (BT125), 11,9 % (BT175) und 16,5 % (BT225) waren zwischen den Glocken BT55 und BT125 sowie den Glocken BT175 und BT225 mit

$P = 0,151$ bzw. $0,841$ keine signifikanten Differenzen hinsichtlich der Thrombozytenkonzentration auszumachen, während die restlichen Kombinationen an Glockengrößen signifikante oder hochsignifikante Unterschiede vorzuweisen hatten. Die Höhe der Gesamtzahl an Thrombozyten, welche im verarbeiteten Testblut bzw. in den daraus erzeugten Produkten vorlag, lässt sich aus Abbildung 4-13 entnehmen.

Im Vergleich mit der Electa wies die Xtra® im BCP eine um 20,7 bis 31,7 % (BT225 bzw. BT125) niedrigere Thrombozytenkonzentration auf – die Glocken BT55 und BT175 wiesen Konzentrationsunterschiede von 28,2 bzw. 22,8 % auf. Dabei war lediglich die Differenz zwischen den beiden 175-ml-Glocken mit $P = 0,095$ nicht signifikant, während sich die Unterschiede der 125-ml-Glocken mit $P = 0,032$ als signifikant und die der Glocken BT55 und BT225 mit $P = 0,008$ als hochsignifikant erwiesen.

Verglichen mit der Thrombozytenkonzentration des Testbluts erhöhte sich die Konzentration der Thrombozyten des BCP mit steigender Glockengröße im Mittel um das 4,4-, 5,1-, 7,4- und 8,0-fache (vergleiche hierzu Abbildung 4-14b). Die relativen Standardabweichungen der einzelnen Glocken lagen dabei mit Werten von 12,8 % (BT55), 12,4 % (BT125), 10,7 % (BT175) und 11,7 % (BT225) recht nahe beieinander. Hinsichtlich der Erhöhung der Thrombozytenkonzentration konnte zwischen der 55- und der 125- ($P = 0,095$) sowie zwischen der 175- und der 225-ml-Glocke ($P = 0,421$) kein signifikanter Unterschied ausgemacht werden, wohingegen die restlichen Kombinationen an Glockengrößen allesamt hochsignifikante Differenzen aufzuweisen hatten.

Gegenüber der Electa nahm die Erhöhungsrates der Thrombozytenkonzentration in den Glocken BT55 und BT125 der Xtra® um 6,3 bzw. 13,9 % ab und in den Glocken BT125 und BT225 um 0,7 bzw. 1,0 % zu. Mit $P \geq 0,690$ waren diese Differenzen zwischen den beiden Geräten jedoch nicht von Signifikanz.

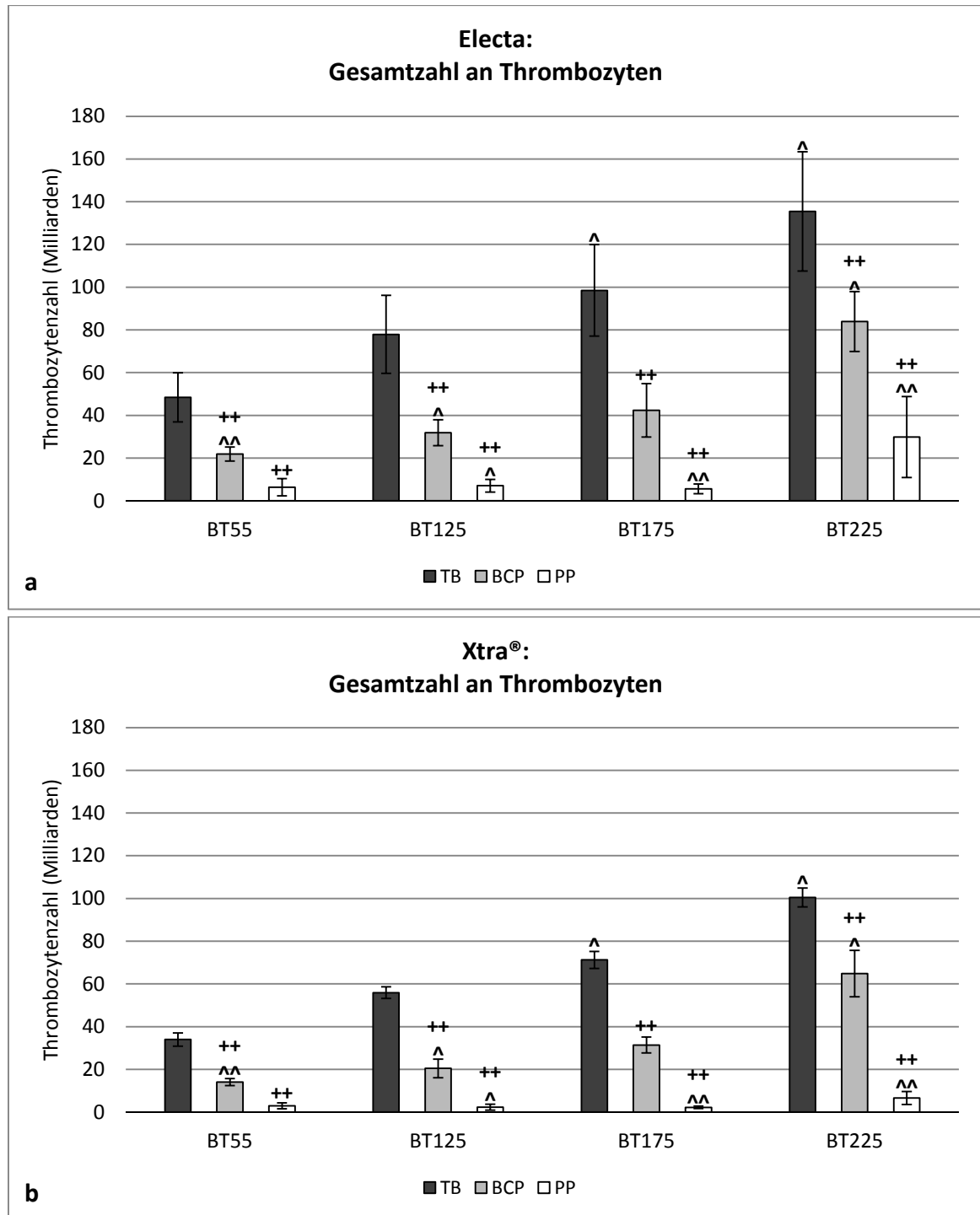


Abbildung 4-13. Gesamtzahl an Thrombozyten. Bezogen auf das verarbeitete Testblut (TB), das erzeugte buffy coat plasma (BCP) und das pure plasma (PP) unter Berücksichtigung der verschiedenen Glockengrößen (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225). Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut, Zirkumflexe (^) stellen signifikante Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“ dar. Doppelte Symbole (++, ^^) repräsentieren hochsignifikante ($P < 0,01$) Differenzen. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

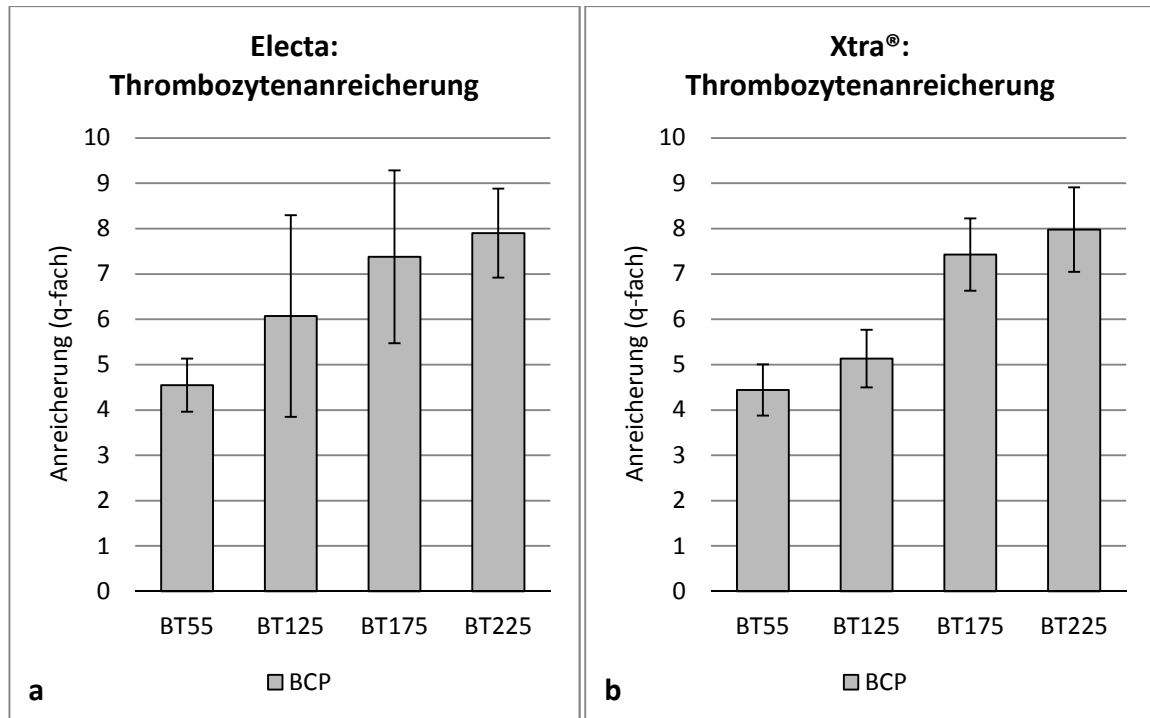


Abbildung 4-14. Thrombozytenanreicherung. Faktor (q), um den die Thrombozytenkonzentration des buffy coat plasma (BCP) jene des Testbluts übertraf – in Abhängigkeit der Glockengröße (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

4.2.3 Gesamteiweiß

Electa

Ausgehend von 50,4 g/l im Testblut stieg die Proteinkonzentration im pure plasma (PP) um durchschnittlich 1,2 % auf einen Mittelwert von 51,0 g/l an (vergleiche hierzu Abbildung 4-15a). Im buffy coat plasma (BCP) lag die Proteinkonzentration im Schnitt um 1,1 % höher als im Testblut und somit ebenfalls bei einem Mittelwert von 51,0 g/l. Bei relativen Standardabweichungen von 4,5 % im Testblut sowie 1,5 % im PP und im BCP erwiesen sich die Unterschiede der Proteinkonzentration zwischen dem Testblut und den beiden Produkten mit $0,265 \leq P \leq 0,799$ als insignifikant. Ebenso waren zwischen den verschiedenen Glockengrößen hinsichtlich der Proteinkonzentration keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen.

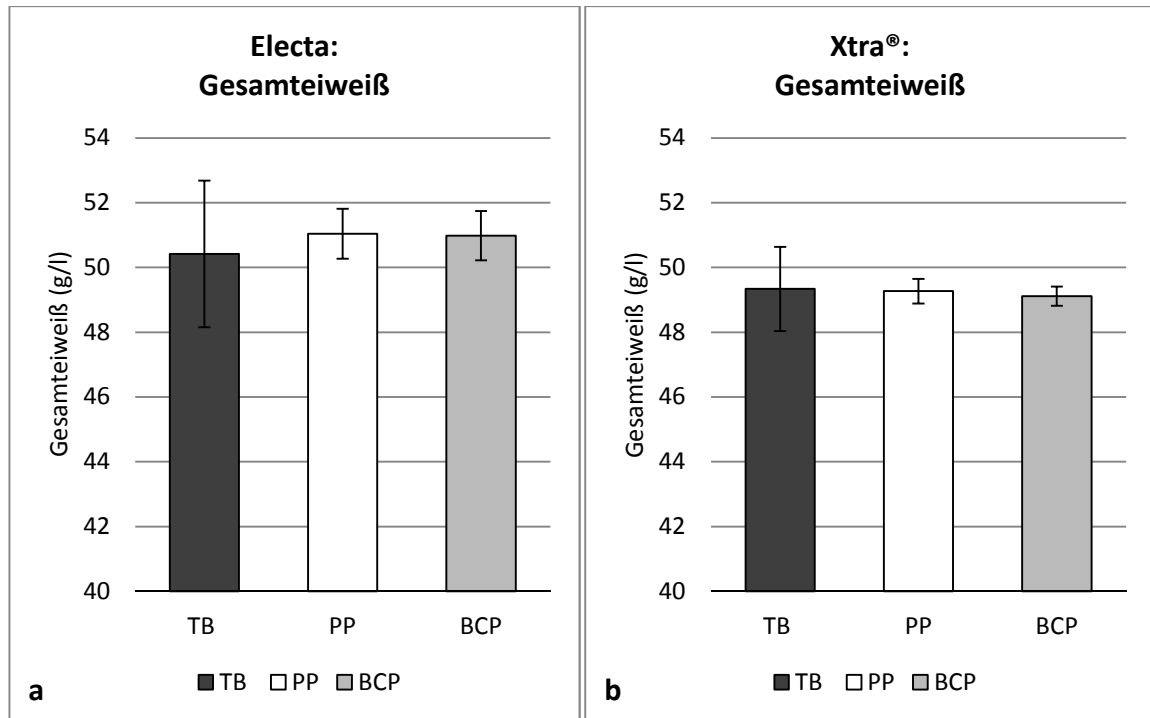


Abbildung 4-15. Gesamteiweiß. Proteinkonzentration des verarbeiteten Testbluts (TB) sowie des erzeugten buffy coat plasma (BCP) und des pure plasma (PP). Weder BCP noch PP unterschieden sich signifikant vom Testblut. Ebenso lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Geräte „Electa“ und „Xtra®“ vor. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

Xtra®

Gegenüber der Proteinkonzentration des Testblutes war im PP mit einem Durchschnittswert von ebenfalls 49,3 g/l keine Veränderung auszumachen, während die Konzentration des Gesamteiweißes im BCP gegenüber dem Testblut um 0,5 % abnahm und somit einen Mittelwert von 49,0 g/l erreichte (vergleiche hierzu Abbildung 4-15b). Die relative Standardabweichung der Proteinkonzentration betrug im Testblut 2,6 % und in den Produkten PP und BCP 0,8 bzw. 0,6 %. Signifikante Unterschiede in der Proteinkonzentration zwischen Testblut und PP oder BCP lagen mit $0,565 \leq P \leq 0,841$ nicht vor und auch zwischen den verschiedenen Glockengrößen kam es zu keinen signifikanten Differenzen.

Verglichen mit der Electa lagen die Proteinkonzentrationen, welche mit der Xtra® erreicht wurden, stets etwas niedriger: im Testblut um 2,1 %, im pure plasma um 3,5 % und im buffy coat plasma um 3,6 %. Signifikant waren diese Differenzen zwischen Electa und Xtra® mit $P \geq 0,310$ jedoch nie.

4.2.4 Freies Hämoglobin

Electa

Das Testblut wies im Schnitt 36,8 mg freies Hämoglobin (fHb) pro Liter auf. Wie auch auf Abbildung 4-16a deutlich zu erkennen, unterlag es dabei aber mit Werten zwischen 15,0 und 61,0 mg/l von Tag zu Tag sehr starken Schwankungen, die zu einer relativen Standardabweichung von 51,1 % führten. Die Konzentration des freien Hämoglobins lag im pure plasma (PP) der Glocken BT55 und BT225 mit Werten von 54,0 bzw. 41,8 mg/l um 46,7 bzw. 13,6 % höher als im Testblut, in den Glocken BT125 und BT175 andererseits mit 16,4 bzw. 15,0 mg/l um 55,4 bzw. 59,2 % niedriger, was zu einer relativen Standardabweichung von 60,6 % führte. Analog dazu fiel auch die Konzentration an freiem Hämoglobin des buffy coat plasma (BCP) in den Glocken BT55 und BT225 mit durchschnittlich 58,0 bzw. 52,6 mg/l um 57,6 bzw. 42,9 % höher aus als im Testblut und in den Glocken BT125 und BT175 mit 20,8 bzw. 22,6 mg/l um 43,5 bzw. 38,6 % niedriger, sodass eine relative Standardabweichung von 50,8 % zu beobachten war. Vergleich man PP, BCP und Testblut miteinander, so fand sich weder zwischen Testblut und PP ($P = 0,201$), noch zwischen Testblut und BCP ($P = 0,841$) oder BCP und PP ($P = 0,086$) ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Konzentration an freiem Hämoglobin.

Die sechsstündige Lagerung der Proben bei Raumtemperatur führte beim Testblut zu einer Erhöhung der Konzentration an freiem Hämoglobin um 1,6 % auf einen Mittelwert von 37,4 mg/l. Im PP kam es durch diese Lagerung in den Glocken BT55 und BT125 zu einer Abnahme der Konzentration an freiem Hämoglobin um 16,3 bzw. 8,5 % auf Werte von 45,2 bzw. 15,0 mg/l während in der 175-ml-Glocke keinerlei Veränderungen gegenüber dem Ausgangswert von 15,0 mg/l auszumachen waren und die 225-ml-Glocke eine Erhöhung besagter Konzentration um 4,8 % auf einen Mittelwert von 42,0 mg/l zu verzeichnen hatte. Das BCP der Glocken BT55, BT125 und BT175 zeigte während der sechsstündigen Lagerung eine Konzentrationserhöhung des freien Hämoglobins um 12,8 %, 64,4 % und 2,7 % auf Mittelwerte von 65,4 mg/l, 34,2 mg/l und 23,2 mg/l, wohingegen in der 225-ml-Glocke eine Abnahme dieser Konzentration um 19,0 % auf einen Durch-

schnittswert von 42,0 mg/l zu beobachten war. Betrachtete man die Mittelwerte der untersuchten Proben, so ergaben sich im Rahmen der sechsstündigen Lagerung weder für das Testblut ($P = 0,548$), noch für PP oder BCP ($P = 0,904$ bzw. $0,758$) signifikante Differenzen in der Konzentration des freien Hämoglobins.

Xtra®

Die Konzentration des freien Hämoglobins der Xtra®-Versuche (vergleiche hierzu Abbildung 4-16b) schwankte im Testblut zwischen 20,5 und 79,0 mg/l, was bei einer relativen Standardabweichung von 56,8 % einen Mittelwert von 45,1 mg/l ergab. Im PP lag die Konzentration des freien Hämoglobins bei Verwendung der 225-ml-Glocke mit 46,1 mg/l um 2,1 % über dem Wert des Testblutes, während die Glocken BT55, BT125 und BT175 mit Durchschnittswerten von 33,5 mg/l, 25,2 mg/l und 24,8 mg/l um 25,7 %, 44,2 % und 45,1 % niedrigere Konzentrationen vorzuweisen hatten als das Testblut. Die relative Standardabweichung der ermittelten Konzentrationen an freiem Hämoglobin betrug dabei im PP 30,8 %. Das BCP zeigte mit den Glocken BT55 und BT225 gegenüber dem Testblut eine Zunahme der Konzentration des freien Hämoglobins um 17,5 bzw. 58,2 % auf Mittelwerte von 53,0 bzw. 71,4 %, während in den Glocken BT125 und BT175 Abnahmen der Konzentration des freien Hämoglobins um 18,2 bzw. 21,9 % auf 36,9 bzw. 35,2 mg/l zu verzeichnen waren. Dabei betrug die relative Standardabweichung der ermittelten Konzentrationen an freiem Hämoglobin im BCP 34,3 %. Weder das BCP noch das PP hoben sich hinsichtlich der Konzentration des freien Hämoglobins signifikant vom verwendeten Testblut ab ($P = 0,429$ bzw. $0,589$) und auch zwischen den beiden Produkten BCP und PP war kein signifikanter Unterschied auszumachen ($P = 0,992$).

Bedingt durch die sechsstündige Lagerung der Proben bei Raumtemperatur war im Testblut eine Zunahme der fHb-Konzentration um 40,5 % auf einen Mittelwert von 63,4 mg/l zu verzeichnen. Das PP der Glocken BT55, BT125 und BT175 zeigte nach der sechsstündigen Lagerung nur eine sehr dezente Zunahme der Konzentration des freien Hämoglobins um 0,2 %, 0,8 % und 2,6 % auf Durchschnittswerte von 33,6 mg/l, 25,4 mg/l und 25,4 mg/l, während in der 225-ml-Glocke eine Abnahme der Konzentration an frei-

em Hämoglobin um 0,5 % auf einen Mittelwert von 45,8 mg/l zu beobachten war. Im BCP lag die Konzentration an freiem Hämoglobin nach der sechsstündigen Lagerung durchgehend über dem Ausgangswert. Dabei hatten die Glocken BT225 und BT125 mit Konzentrationserhöhungen um 7,9 bzw. 23,0 % auf durchschnittlich 77,0 bzw. 45,4 mg/l den niedrigsten bzw. höchsten Anstieg vorzuweisen, während die Glocken BT55 und BT175 mit Zunahmen von 12,1 bzw. 11,9 % auf Mittelwerte von 59,4 bzw. 39,4 mg/l das Mittelfeld bildeten. Mit $P = 0,310$ erwies sich der lagerungsbedingte Anstieg der Konzentration des freien Hämoglobins des Testbluts als nicht signifikant. Ebenfalls als nicht signifikant stellten sich mit $P = 0,989$ und $0,242$ die Differenzen zwischen den fHb-Konzentrationen der sofort getesteten und der 6 Stunden gelagerten Proben des PP bzw. des BCP dar.

Das Testblut der Xtra®-Versuchsreihe erreichte zwar gegenüber jenem der Electa-Versuche eine im Schnitt um 22,6 % höhere Konzentration an freiem Hämoglobin – mit $P = 0,690$ war diese Differenz jedoch nicht signifikant. Im PP, welches im Rahmen der Xtra®-Versuche gewonnen wurde, lag die fHb-Konzentration in den Glocken BT125, BT175 und BT225 um 53,6 %, 65,1 % und 10,2 % über den in den Electa-Versuchen ermittelten Werten, wohingegen die 55-ml-Glocke einen um 37,9 % niedrigeren Wert aufwies. Die Unterschiede in den Konzentrationen der 125- und der 175-ml-Glocke erwiesen sich dabei mit $P = 0,016$ bzw. $0,008$ als signifikant bzw. hochsignifikant, während die Differenzen der Glocken BT55 und BT225 mit $P = 0,151$ bzw. $0,690$ keine Signifikanz aufwiesen. Betrachtete man das PP der beiden Geräte, ohne zwischen den verschiedenen Glockengrößen zu unterscheiden, so war zwischen den jeweiligen fHb-Konzentrationen mit $P = 0,114$ keine signifikante Differenz auszumachen. Das BCP der Proben der Xtra®-Versuche erreichte in der 55-ml-Glocke eine um 8,6 % geringere Konzentration an freiem Hämoglobin als jenes der Electa-Versuche, wohingegen die Glocken BT125, BT175 und BT225 um 77,5 %, 55,8 % und 35,7 % höhere Konzentrationen vorzuweisen hatten. Vergleich man die fHb-Konzentrationen des von beiden Geräten erzeugten BCP miteinander, ohne dabei die verschiedenen Glockengrößen zu berücksichtigen, so stellte sich die Differenz mit $P = 0,043$ als signifikant dar – obgleich die Konzentrationsdifferenzen der einzelnen Glocken mit $0,056 \leq P \leq 1,000$ stets über dem Signifikanzniveau von 5 % lagen.

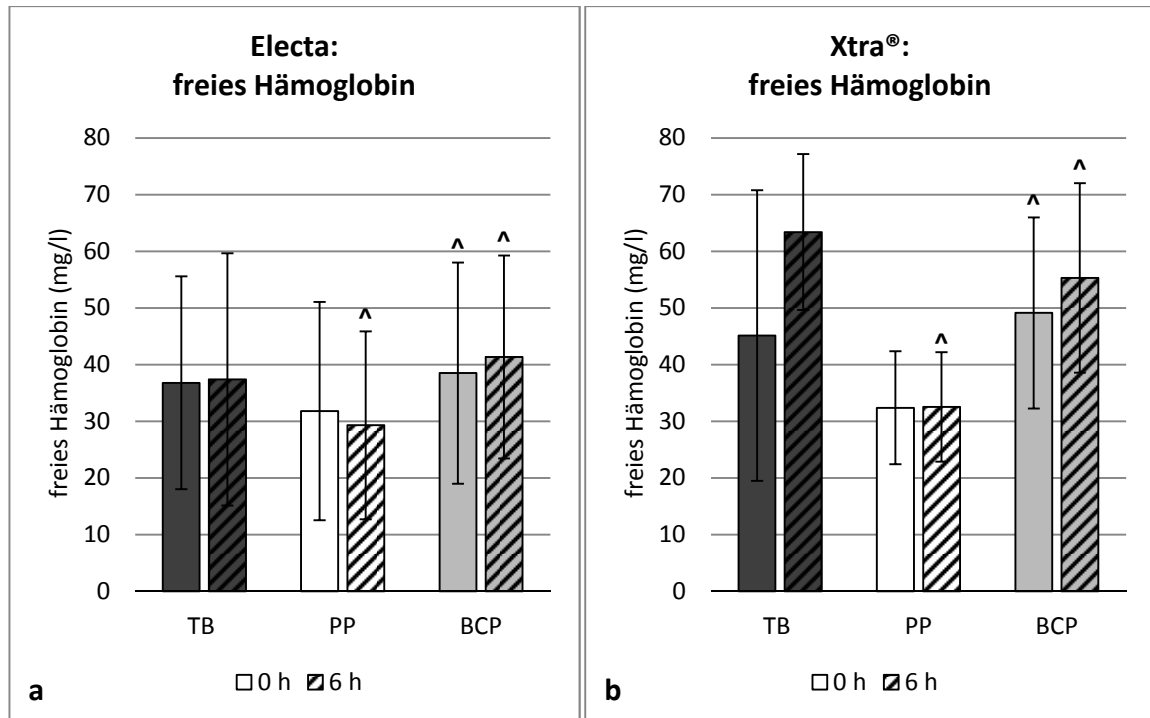


Abbildung 4-16. Freies Hämoglobin. Konzentration an freiem Hämoglobin der Proben „Testblut“ (TB), „pure plasma“ (PP) und „buffy coat plasma“ (BCP) vor (0 h) und nach sechsständiger Lagerung (6 h; gestreifte Säulen). Zirkumflexe (^) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“. Weder BCP noch PP unterschieden sich signifikant vom Testblut. Ebenso lagen keine signifikanten Differenzen zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsständiger Lagerung vor. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

4.2.5 pH-Wert

Electa

Bedingt durch die Antikoagulation mittels Citrat wies das Testblut einen niedrigen pH-Wert auf, der mit einer relativen Standardabweichung von 0,6 % konstant bei 7,06 lag (vergleiche hierzu Abbildung 4-17a). Durch die Apherese näherte sich der pH-Wert im pure plasma (PP) mit einem Durchschnittswert von 7,30 dem physiologischen Bereich (von 7,35 bis 7,43 für gemischt-venöses Blut [161]) und lag im Schnitt 3,5 % über dem pH-Wert des Testbluts. Mit einer relativen Standardabweichung von 0,4 % unterlag das PP bezüglich des pH-Wertes noch geringeren Schwankungen als das Testblut. Das buffy coat plasma (BCP) zeigte gegenüber dem Testblut einen Anstieg des pH-Wertes um 2,8 % auf einen Durchschnittswert von 7,26, welcher mit einer relativen Standardabweichung

von unter 0,1 % kaum Schwankungen unterlag. Sowohl die Unterschiede zwischen dem Testblut und den beiden Aphereseprodukten PP und BCP, als auch jene zwischen eben-diesen Produkten erwiesen sich mit $P = 0,000$ bzw. $0,001$ als hochsignifikant.

Die sechsstündige Lagerung bei Raumtemperatur führte im Testblut zu einer mit $P = 0,343$ insignifikanten Abnahme des pH-Wertes um 0,4 % auf einen Mittelwert von 7,03, welcher mit einer relativen Standardabweichung von 0,01 % quasi keinen Schwankungen unterlag. Das PP wies nach der Lagerung über 6 Stunden bei einer relativen Standardabweichung von 0,3 % einen mittleren pH-Wert von 7,33 auf, was gegenüber dem Ausgangswert von 7,30 eine insignifikante ($P = 0,343$) Erhöhung um 0,4 % darstellte. Im BCP führte die sechsstündige Lagerung bei einer relativen Standardabweichung von 0,8 % zu einer mit $P = 0,029$ signifikanten Abnahme des pH-Wertes um 1,3 % auf einen Mittelwert von 7,17.

Xtra®

Das mit Citrat antikoagulierte Testblut wies in den Xtra®-Versuchen bei einer relativen Standardabweichung von 0,3 % einen pH-Wert von 7,06 auf (vergleiche hierzu Abbildung 4-17b). Demgegenüber stieg der pH-Wert des PP im Schnitt um 2,8 % an, sodass bei einer relativen Standardabweichung von 0,5 % ein Mittelwert von 7,26 erreicht wurde. Im BCP fiel der pH-Anstieg gegenüber dem Testblut mit durchschnittlich 1,1 % wesentlich geringer aus, sodass der pH-Wert des BCP bei einer relativen Standardabweichung von 0,4 % im Schnitt 7,14 betrug. Als hochsignifikant erwiesen sich mit $P = 0,000$ sowohl die Differenzen zwischen Testblut und BCP oder PP, als auch jene zwischen BCP und PP.

Nach der sechsstündigen Lagerung lag der pH-Wert des Testbluts mit einem Durchschnittswert von 7,05 bei einer relativen Standardabweichung von 0,1 % lediglich um 0,2 % unter dem Ausgangswert, was mit $P = 0,548$ keine signifikante Veränderung darstellte. Das PP wies nach der sechsstündigen Lagerung ebenfalls keine signifikante Veränderung des pH-Werts auf: Dieser lag mit einer relativen Standardabweichung von 0,4 % bei durchschnittlich 7,27 und damit 0,2 % über dem Ausgangswert. Das BCP hatte nach der Lagerung über 6 Stunden mit durchschnittlich 7,11 einen pH-Wert zu verzeichnen,

der bei einer relativen Standardabweichung von 0,5 % um 0,4 % unter dem Ausgangswert lag. Mit $P = 0,021$ befand sich diese Differenz unterhalb des Signifikanzniveaus von 5 %.

Hinsichtlich des pH-Werts unterschied sich das Testblut der Xtra®-Versuchsreihe nicht von dem der Electa-Versuchsreihe. Als hochsignifikant hingegen erwies sich mit $P = 0,004$ die Differenz der pH-Werte des PP: Hier hatte die Xtra® einen im Schnitt um 0,6 % niedrigeren Wert vorzuweisen als die Electa. Auch das BCP, welches die Xtra® erzeugte, zeigte einen mit $P = 0,000$ hochsignifikant niedrigeren pH-Wert als jenes der Electa. In diesem Falle betrug die Differenz gegenüber dem BCP der Electa 1,7 %.

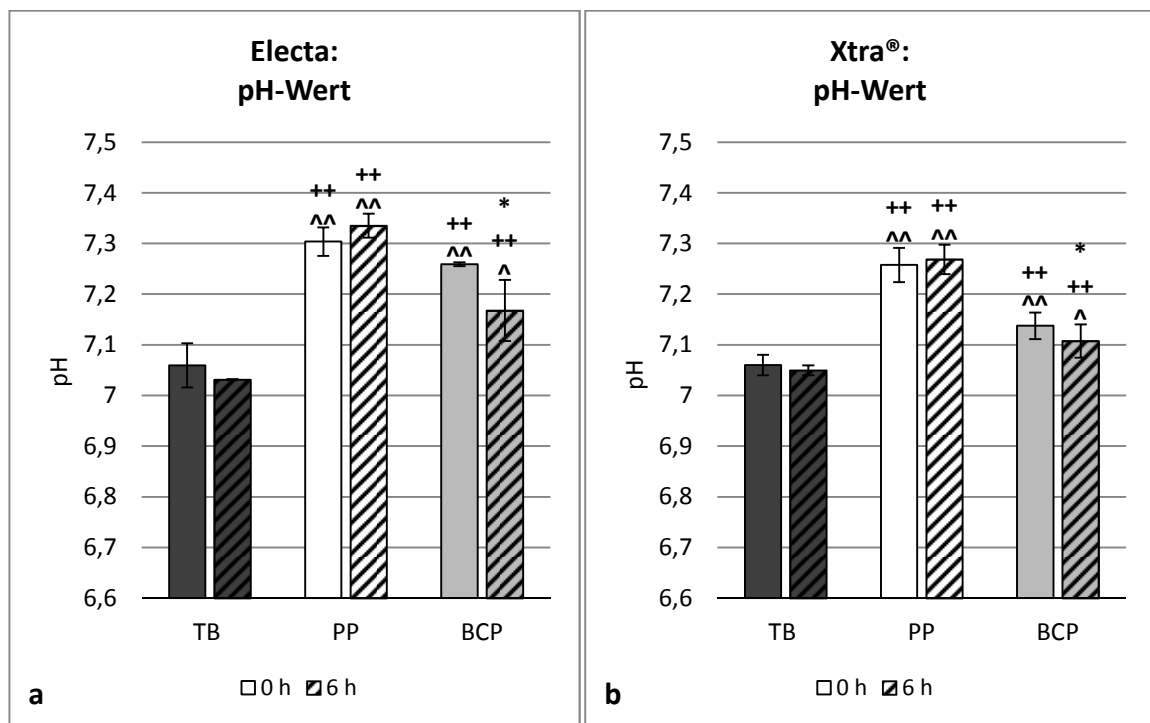


Abbildung 4-17. pH-Wert. Bezogen jeweils auf die Proben „Testblut“ (TB), „pure plasma“ (PP) und „buffy coat plasma“ (BCP) vor (0 h) und nach sechsstündiger Lagerung (6 h; gestrichelte Säulen). Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut, Sternchen (*) signifikante Differenzen zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsstündiger Lagerung. Zirkumflexe (^) stellen signifikante Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“ dar. Doppelte Symbole (++, **, ^^) repräsentieren jeweils hochsignifikante ($P < 0,01$) Differenzen. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

4.2.6 Mittleres Plättchenvolumen

Für das mittlere Plättchenvolumen (MPV = mean platelet volume) gab das Zentrallabor des Universitätsklinikums Regensburg, welches auch die entsprechende Messung durchführte, einen Referenzbereich von 9,4 bis 12,5 fl an. Einen Überblick über die ermittelten Ergebnisse bietet Abbildung 4-18.

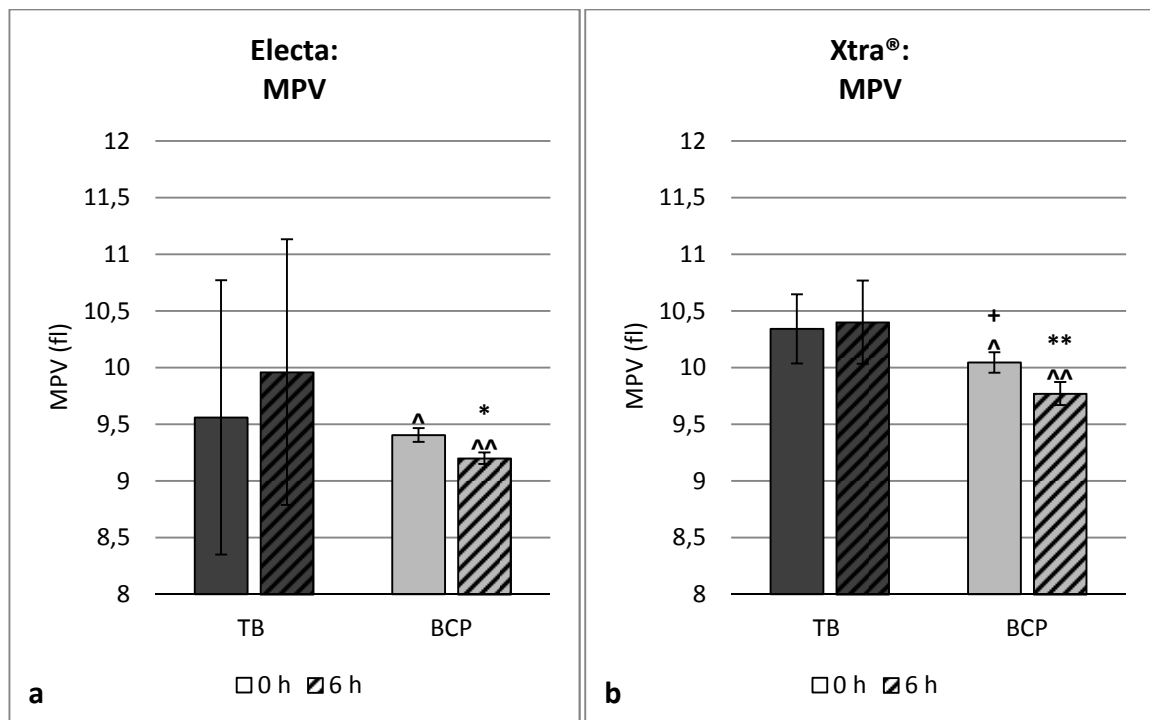


Abbildung 4-18. Mittleres Volumen der Thrombozyten. Mittleres Plättchenvolumen (MPV = mean platelet volume) in Testblut (TB) und buffy coat plasma (BCP) vor (0 h) und nach sechsständiger Lagerung (6 h; gestreifte Säulen). Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut, Sternchen (*) signifikante Differenzen zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsständiger Lagerung. Zirkumflexe (^) stellen signifikante Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“ dar. Doppelte Symbole (**, ^^) repräsentieren hochsignifikante ($P < 0,01$) Differenzen. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

Electa

Mit einem Durchschnittswert von 9,6 fl befand sich das MPV bereits im Testblut auf einem relativ niedrigen Niveau und unterlag während der einzelnen Versuchstage zudem recht starken Schwankungen: Bei Werten zwischen 8,0 und 11,3 fl ergab sich eine relative

Standardabweichung von 12,7 %. Durch die Apherese kam es zu einer mit $P = 0,921$ insignifikanten Abnahme des MPV um 1,6 %, sodass dieses im buffy coat plasma (BCP) im Schnitt 9,4 fl betrug. Mit 0,6 % war die relative Standardabweichung des mittleren Plättchenvolumens im BCP wesentlich geringer ausgeprägt als im Testblut.

Nach sechsständiger Lagerung der Proben bei Raumtemperatur war im Testblut eine mit $P = 0,548$ insignifikante Erhöhung des mittleren Thrombozytenvolumens um 4,2 % auf durchschnittlich 10,0 fl zu beobachten. Die relative Standardabweichung des MPV lag dabei mit 11,8 % auf einem ähnlich hohen Niveau wie die des Ausgangsblutes. Im BCP war am Ende der sechsständigen Lagerung eine Abnahme des MPV um 2,2 % auf einen Mittelwert von 9,2 fl zu beobachten. Bei einer relativen Standardabweichung von 0,6 % war diese Volumenabnahme mit $P = 0,029$ als signifikant einzustufen.

Xtra®

Mit einem Durchschnittswert von 10,3 fl und Extremwerten von 10,1 und 10,8 fl lag das mittlere Volumen der Thrombozyten des Testbluts der Xtra®-Versuchsreihe genau innerhalb des vom Labor angegebenen Referenzbereiches von 9,4 bis 12,5 fl. Als relative Standardabweichung konnte dabei ein Wert von 3,0 % ermittelt werden. Im BCP lag das mittlere Plättchenvolumen bei einem Durchschnittswert von 10,0 fl um 2,9 % niedriger als im Testblut. Bei einer relativen Standardabweichung von 0,9 % erwies sich diese Differenz gegenüber dem Testblut mit $P = 0,035$ als signifikant.

Während der sechsständigen Lagerung der Proben bei Raumtemperatur nahm das mittlere Thrombozytenvolumen im Testblut um insignifikante ($P = 0,841$) 0,6 % auf einen Mittelwert von 10,4 fl ab. Die relative Standardabweichung des mittleren Thrombozytenvolumens lag nach der sechsständigen Lagerung im Testblut mit 3,5 % etwas höher als davor. Das BCP hatte während der sechsständigen Lagerung eine mit $P = 0,001$ hochsignifikante Verringerung des mittleren Thrombozytenvolumens um 2,7 % zu verzeichnen, die zu einem Durchschnittswert von 9,8 fl führte. Mit 1,0 % entsprach die relative Standardabweichung des mittleren Plättchenvolumens des BCP nach der sechsständigen Lagerung beinahe exakt jener vor besagter Lagerung.

Das Testblut der Xtra®-Versuchsreihe hatte ein um 8,2 % höheres mittleres Plättchen-volumen vorzuweisen als jenes der Electa-Versuchsreihe. Mit $P = 0,151$ erwies sich diese Differenz jedoch als nicht signifikant. Im BCP der Xtra®-Versuche war ebenfalls ein um durchschnittlich 6,8 % höheres mittleres Thrombozytenvolumen auszumachen als in den Versuchen mit der Electa. In diesem Falle fiel der Unterschied mit $P = 0,038$ jedoch signifikant aus.

4.2.7 Morphologie der Thrombozyten

Zur lichtmikroskopischen Beurteilung der Thrombozytenmorphologie kam ein Scoring-System zum Einsatz, das am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg entwickelt wurde. Bei diesem Scoring-System können in den drei Kategorien „Thrombozytenaktivierung“, „Thrombozytenfragmentierung“ und „ballonierte Thrombozyten“ jeweils 0 bis 3 Punkte erreicht werden, wobei 3 Punkte die ungünstigste Morphologie darstellen. Der Morphologie-Score errechnet sich durch die Summation der Punkte aller Kategorien. Abbildung 4-19 stellt eine Übersicht der so erreichten Punktwerte dar.

Electa

Das Testblut wies durchgehend einen Skalenwert von 1 auf und zeigte dabei keinerlei Schwankungen. Im buffy coat plasma (BCP) wiesen die Thrombozyten durchgehend höhere Skalenwerte und damit eine unphysiologischere Morphologie auf: Während die Glocken BT55 und BT225 mit Werten von 1,8 bzw. 1,6 im Schnitt um 0,8 bzw. 0,6 Punkte über den Werten des Testbluts lagen, erhöhte sich der Skalenwert in den Glocken BT125 und BT175 im Schnitt um 1,4 Punkte auf einen Mittelwert von 2,4. In den Glocken BT55, BT125 und BT175 erwies sich der Unterschied im Morphologie-Score zwischen Testblut und BCP mit $P = 0,032$ durchgehend als signifikant, wohingegen die 225-ml-Glocke in dieser Hinsicht mit $P = 0,151$ das Signifikanzniveau von 5 % verfehlte. Betrachtete man lediglich die Durchschnittswerte von Testblut und BCP, ohne die unterschiedlichen

Glockengrößen zu berücksichtigen, so lag der Skalenwert des BCP mit 2,1 Punkten um durchschnittlich 1,1 Punkte höher als jener des Testbluts und hob sich mit $P = 0,007$ hochsignifikant von diesem ab. Die relative Standardabweichung des Morphologie-Scores betrug im BCP je nach Glocke zwischen 24,9 und 47,5 %, wobei man erstgenannten Wert in der 55-ml-Glocke und letztgenannten in den Glocken BT125 und BT175 vorfand, während die 225-ml-Glocke eine relative Standardabweichung von 34,2 % vorzuweisen hatte. Demzufolge betrug die relative Standardabweichung des Morphologie-Scores des BCP im Mittel 38,5 %.

Durch eine Lagerung der Proben für 6 Stunden bei Raumtemperatur verschlechterte sich der Morphologie-Skalenwert im Testblut mit $P = 0,690$ insignifikant um 0,4 Punkte auf 1,4 Punkte. Zudem lag im Testblut nach der sechsständigen Lagerung eine relative Standardabweichung von 63,9 % vor. Im BCP wiesen sämtliche Glocken einen durchschnittlichen Skalenwert von 2,6 Punkten auf, wodurch sich die Glocken BT125 und BT175 um je 0,2 Punkte gegenüber dem Ausgangswert verschlechterten, während die Differenzen der Glocken BT55 und BT225 zum Ausgangswert 0,8 bzw. 1,0 Punkte betrugen. Mit $0,056 \leq P \leq 0,841$ (BT225 bzw. BT175) lagen zwar bei Betrachtung der einzelnen Glockengrößen zwischen dem Morphologie-Score des 6 Stunden gelagerten BCP und jenem des ungelagerten BCP nie signifikante Unterschiede vor – verglich man jedoch die Differenz zwischen gelagertem und ungelagertem BCP, ohne zwischen den verschiedenen Glockengrößen zu unterscheiden, so erwies sich diese mit $P = 0,040$ als signifikant. Die relativen Standardabweichungen des Morphologie-Scores des 6 Stunden gelagerten BCP betrugen in den Glocken BT125 und BT225 je 21,3 % und in den Glocken BT55 und BT175 je 43,9 %.

Xtra®

Im Testblut konnte für die Morphologie der Thrombozyten stets ein Skalenwert von 1 Punkt ermittelt werden, sodass eine Standardabweichung von 0 zu verzeichnen war. Dieser Skalenwert stieg im BCP in den Glocken BT55 und BT225 im Schnitt um 0,6 Punkte auf je 1,6 Punkte an, während in den Glocken BT125 und BT175 Zunahmen

um durchschnittlich 1,0 bzw. 1,2 Punkte auf Mittelwerte von 2,0 bzw. 2,2 Punkten auszumachen waren. Gemittelt über alle Glockengrößen fand sich somit eine Erhöhung des Skalenwertes um 0,9 Punkte auf einen Durchschnittswert von 1,9 Punkten. Von Signifikanz waren diese Verschlechterungen der Morphologie mit $P = 0,032$ in den Glocken der Größe 125- und 175-ml sowie mit $P = 0,015$ bei Betrachtung des über alle Glockengrößen gemittelten Wertes, während in den Glocken der Größe 55- und 225-ml das Signifikanzniveau von 5 % mit $P = 0,151$ nicht erreicht werden konnte. Die relativen Standardabweichungen des Morphologie-Scores der Thrombozyten des BCP betrugen in den Glocken BT55 und BT225 jeweils 34,2 %, in der 125-ml-Glocke 35,4 % und in der 175-ml-Glocke 38,0 %. Über alle Glocken gemittelt ergab sich somit eine relative Standardabweichung von 35,5 %.

Nach sechsstündiger Lagerung belief sich der Morphologie-Score der Thrombozyten des Testbluts bei einer relativen Standardabweichung von 55,9 % auf 1,6 Punkte. Gegenüber dem Ausgangswert lag somit eine Verschlechterung um 0,6 Punkte vor, was mit $P = 0,310$ jedoch nicht von Signifikanz war. Im BCP war nach sechsstündiger Lagerung der Proben ebenfalls eine mit $0,222 \leq P \leq 0,548$ insignifikante Verschlechterung der Morphologie zu beobachten, die in den Glocken BT55 und BT225 je 0,6 und in den Glocken BT125 und BT175 je 0,4 Punkte betrug. Daraus resultierten im 6 Stunden gelagerten BCP Skalenwerte von 2,2 (BT55 und BT225), 2,4 (BT125) und 2,6 Punkten (BT175). Die relativen Standardabweichungen lagen dabei zwischen 20,3 und 43,9 % (BT225 bzw. BT175), wobei die Glocken BT125 und BT55 Werte von 22,8 bzw. 38,0 % vorzuweisen hatten. Der Durchschnittswert der relativen Standardabweichungen aller Glocken lag somit bei 31,3 %. Gemittelt über alle Glockengrößen lag im 6 Stunden gelagerten BCP ein Skalenwert von 2,4 Punkten vor. Verglichen mit dem ebenfalls über alle Glockengrößen gemittelten Ausgangswert stellte dies eine mit $P = 0,056$ beinahe signifikante Verschlechterung der Morphologie um 0,5 Punkte dar.

Hinsichtlich der Thrombozytenmorphologie unterschied sich das Testblut der Xtra®-Versuche nicht von dem der Electa-Versuchsreihe und auch im BCP waren die Differenzen zwischen den beiden Geräten mit $P \geq 0,690$ (BT55 und BT125) in keiner der

Glocken von Signifikanz: Während die 225-ml-Glocken der beiden Geräte ein BCP mit identischem Morphologie-Score erzeugten, lagen die Skalenwerte der Glocken BT55 und BT175 in der Xtra®-Versuchsreihe um 0,2 Punkte und in der 125-ml-Glocke um 0,4 Punkte niedriger als in der Electa-Versuchsreihe. Im Schnitt wies das BCP, welches mit der Xtra® gewonnen wurde, somit einen um 0,2 Punkte niedrigeren Morphologie-Score auf als jenes der Electa-Versuche – mit $P = 0,620$ stellte diese Differenz jedoch keine signifikante Verbesserung dar.

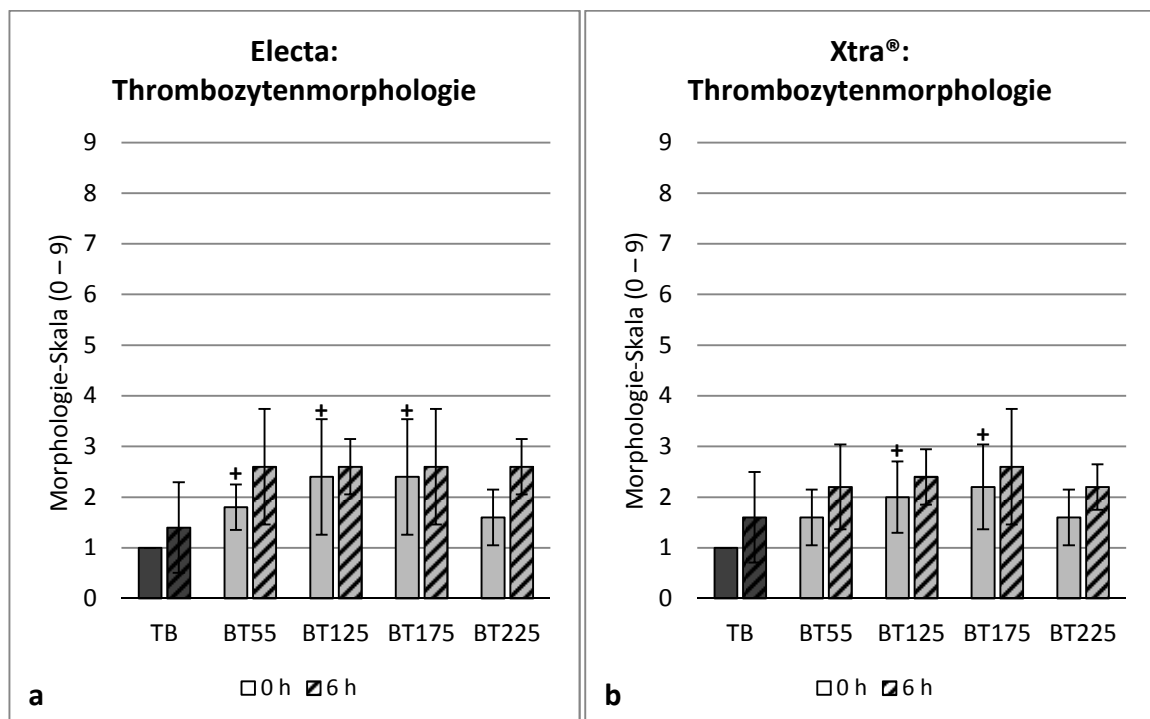


Abbildung 4-19. Thrombozytenmorphologie. Lichtmikroskopische Beurteilung der Morphologie der Thrombozyten anhand einer Skala, auf der 0 Punkte den optimalen und 9 Punkte den unphysiologischsten Zustand markieren (näheres dazu unter 3.4.3.2). Die Proben stammten aus Testblut (TB) und buffy coat plasma (BCP) der vier verschiedenen Glockengrößen (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225), jeweils vor (0 h) und nach sechsständiger Lagerung (6 h; gestreifte Säulen). Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut. In den einzelnen Glocken lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsständiger Lagerung vor, und auch zwischen den Ergebnissen der Geräte „Electa“ und „Xtra®“ zeigten sich keine signifikanten Differenzen. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

4.2.8 Vitalität der Thrombozyten – hypotonic shock response

Die hypotonic shock response (HSR) stellt einen Indikator der Überlebensfähigkeit der Thrombozyten dar. Als Messparameter dient dabei eine Veränderung in der Lichtabsorption, die durch Zugabe von destilliertem Wasser zu einer Lösung mit definierter Konzentration an Thrombozyten hervorgerufen wird. Der als „HSR-Regeneration“ angegebene Wert beschreibt dabei die prozentuale Rückbildung jener Auslenkung, welche die Transmission nach Zugabe von Wasser erfährt und somit indirekt die Regenerationsfähigkeit. Eine Übersicht über die so ermittelten Regenerationsraten bietet Abbildung 4-20.

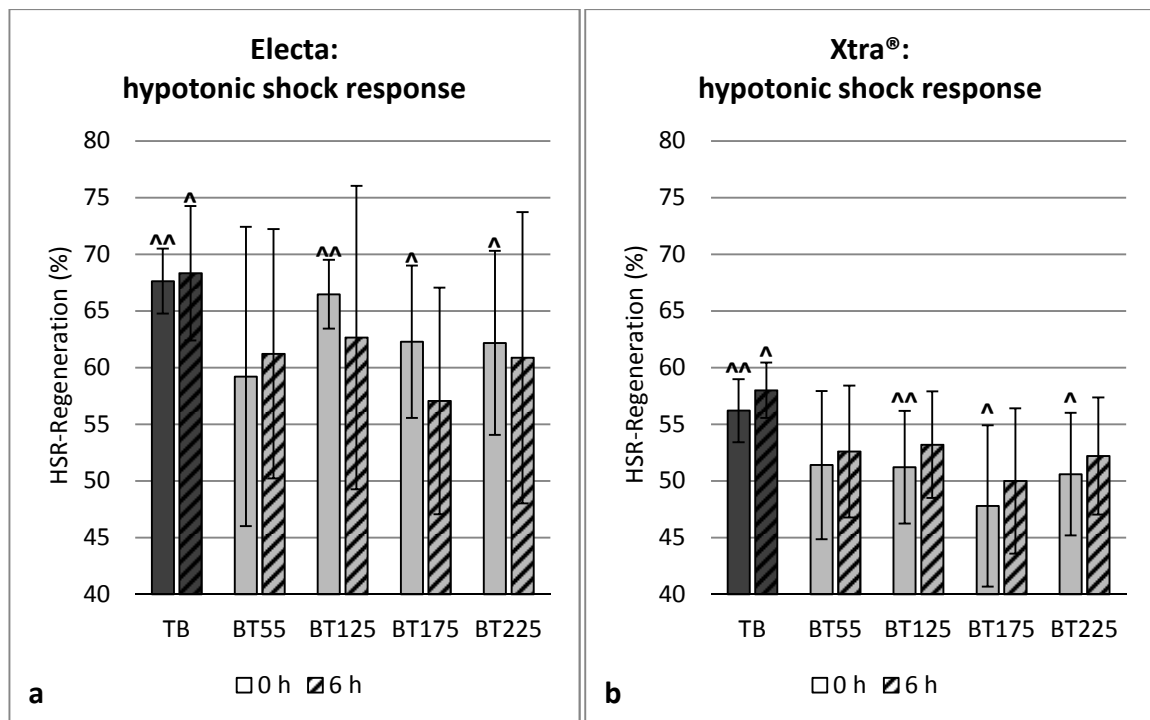


Abbildung 4-20. Hypotonic shock response (HSR). Prozentuale Rückbildung der Transmissionsänderung, welche durch die Zugabe von destilliertem Wasser zu einer Lösung mit definierter Konzentration an Thrombozyten hervorgerufen wurde. Diese HSR-Regenerationsrate dient der Quantifizierung der Regenerationsfähigkeit der Thrombozyten. Die Proben stammten aus Testblut (TB) und buffy coat plasma (BCP) der vier verschiedenen Glockengrößen (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225), jeweils vor (0 h) und nach sechsstündiger Lagerung bei Raumtemperatur (6 h; gestreifte Säulen). Zirkumflexe über den Säulen markieren signifikante (^ für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (^^ für $P < 0,01$) Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“. Das BCP unterschied sich in keiner Glocke signifikant vom TB. Ebenso lagen keine signifikanten Differenzen zwischen der unmittelbaren Untersuchung der Proben und einer Testung nach sechsstündiger Lagerung vor. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

Electa

Als durchschnittliche HSR-Regenerationsrate wurde im Testblut ein Wert von 67,6 % bestimmt, der einer relativen Standardabweichung von 4,2 % unterlag. Das buffy coat plasma (BCP) wies im Vergleich mit dem Testblut stets eine niedrigere Regenerationsrate auf, die sich im Bereich von 59,2 bis 66,5 % (BT55 bzw. BT125) bewegte. Die beiden größeren Glocken BT175 und BT225 zeigten mit 62,3 bzw. 62,2 % beinahe identische HSR-Regenerationsraten und lagen somit um 7,9 bzw. 8,1 % unter den Werten des Testbluts, während die Glocken BT55 und BT125 Abnahmen der Regenerationsrate um 12,5 bzw. 1,7 % zu verzeichnen hatten. Im Schnitt ergab sich somit im BCP gegenüber dem Testblut eine Abnahme der HSR-Regenerationsrate um 7,5 % auf einen Mittelwert von 62,5 %. Mit $0,151 \leq P \leq 0,421$ waren diese Differenzen jedoch in keiner der Glocken von Signifikanz. Die relativen Standardabweichungen der HSR-Regenerationsraten im BCP lagen in der 55-ml-Glocke bei 22,3 % und in den Glocken der Größe 225- und 175-ml bei 13,1 und 10,8 %. In der 125-ml-Glocke fand sich eine relative Standardabweichung von 4,6 %, so dass der Variationskoeffizient im Schnitt 12,7 % betrug. Zwischen den verschiedenen Glockengrößen traten im BCP hinsichtlich der Regenerationsrate der hypotonic shock response mit $0,151 \leq P \leq 1,000$ nie signifikante Differenzen auf.

Eine sechsstündige Lagerung der Proben bei Raumtemperatur führte im Testblut zu einem mit $P = 0,841$ insignifikanten Anstieg der HSR-Regenerationsrate um 1,5 % auf einen Mittelwert von 68,3 %, wobei sich zudem die relative Standardabweichung auf 5,9 % erhöhte. Auch im BCP bedingte die sechsstündige Lagerung keine signifikanten Veränderungen der HSR-Regenerationsraten: In der 55-ml-Glocke war eine Zunahme der Regenerationsrate um 3,4 % ($P = 1,000$) auf durchschnittlich 61,2 % zu beobachten, während in den Glocken BT125, BT175 und BT225 Abnahmen der HSR-Regenerationsraten um 5,8 %, 8,4 % und 2,1 % ($0,421 \leq P \leq 0,841$) auf Mittelwerte von 62,7 %, 57,1 % und 60,9 % auszumachen waren.

Xtra®

Das Testblut der Xtra®-Versuchsreihe wies bei einer relativen Standardabweichung von 4,9 % eine mittlere HSR-Regenerationsrate von 56,2 % auf. Verglichen mit dem Testblut lagen im BCP stets niedrigere HSR-Regenerationsraten vor: So betrugen diese in den Glocken BT55 und BT125 bei Mittelwerten von 51,4 bzw. 51,2 % rund 8,5 bzw. 8,9 % weniger als im Testblut, während die Glocken BT175 und BT225 bei Mittelwerten von 47,8 bzw. 50,6 % Abnahmen von 15,0 bzw. 10,0 % gegenüber dem Testblut aufwiesen. Das Signifikanzniveau von 5 % verfehlten diese Differenzen zwischen Testblut und BCP dabei in allen Glocken: in der 55-ml-Glocke mit $P = 0,222$ recht deutlich, in den restlichen Glocken mit $P = 0,056$ nur knapp. Betrachtete man jedoch die mittlere HSR-Regenerationsrate aller BCP-Proben, ohne die verschiedenen Glockengrößen zu berücksichtigen, so lag diese mit $P = 0,019$ und einem Wert von 50,3 % signifikant um 10,6 % niedriger als jene des Testbluts. Die relative Standardabweichung der HSR-Regenerationsrate des BCP lag im Schnitt bei 12,0 %, wobei die Glocken BT125 und BT175 mit 9,7 bzw. 14,9 % die Extremwerte und die Glocken BT55 und BT225 mit 12,7 bzw. 10,7 % das Mittelfeld darstellten. Untereinander wiesen die Glocken der verschiedenen Größen mit $0,421 \leq P \leq 1,000$ hinsichtlich der HSR-Regenerationsrate im BCP nie signifikante Unterschiede auf.

Die sechsstündige Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur führte im Testblut lediglich zu einer mit $P = 0,310$ insignifikanten Erhöhung der HSR-Regenerationsrate um 3,2 % auf einen Mittelwert von 58,0 %, wobei die relative Standardabweichung mit 4,2 % auf einem ähnlichen Niveau verharrte. Auch im BCP bewirkte die sechsstündige Lagerung mit $P = 0,548$ keine signifikante Änderung der HSR-Regenerationsrate gegenüber dem Ausgangswert: Die Glocken wiesen – mit ansteigender Größe – Zunahmen der Regenerationsraten um 2,3 %, 3,9 %, 4,6 % und 3,2 % auf, was zu Mittelwerten von 52,6 %, 53,2 %, 50,0 % und 52,2 % führte, welche relativen Standardabweichungen von 11,1 %, 8,9 %, 12,8 % und 9,9 % unterlagen.

Im Vergleich mit der Electa-Versuchsreihe wies das Testblut der Xtra®-Versuche eine um 16,9 % niedrigere HSR-Regenerationsrate auf, was mit $P = 0,008$ einen hochsignifikanten Unterschied ausmachte. Ebenso lagen die HSR-Regenerationsraten des BCP in

den Proben der Xtra®-Versuche stets unter jenen der Electa-Versuche, wobei das Signifikanzniveau von 5 % lediglich in der 55-ml-Glocke mit $P = 0,222$ bei einer Differenz von 13,2 % verfehlt wurde: Die Glocken BT175 und BT225 zeigten mit $P = 0,016$ bzw. 0,032 und Differenzen von 23,3 bzw. 18,6 % signifikant niedrigere Regenerationsraten – in der 125-ml-Glocke erwies sich der Unterschied von 23,0 % mit $P = 0,008$ sogar als hochsignifikant. Betrachtete man den Mittelwert aller BCP-Proben, ohne auf die verschiedenen Glockengrößen Rücksicht zu nehmen, so lag die im Rahmen der Xtra®-Versuche ermittelte Regenerationsrate mit $P = 0,000$ um hochsignifikante 12,3 % unter jener, die mit der Electa erzielt wurde.

4.2.9 Funktionalität der Thrombozyten – Aggregometrie

Mit Hilfe der Aggregometrie nach Born ist es möglich, die Funktionalität der Thrombozyten zu beurteilen. Das zu den auf ca. 200.000 Thrombozyten/ μl kalibrierten Proben hinzugegebene Ristocetin initiierte die Agglutination der Thrombozyten. Die dadurch hervorgerufene Erhöhung der Transmission wurde detektiert und in Relation zu jener Transmission gesetzt, die bei vollständiger Thrombozytenagglutination vorlag. Der aus dieser Relation hervorgehende Prozentwert stellte den Messparameter der Thrombozytenaggregation dar. Eine graphische Zusammenfassung der Ergebnisse bietet Abbildung 4-21.

Electa

Im Testblut lag die ermittelte Thrombozytenaggregationsrate im Schnitt bei 92,9 % und wies eine relative Standardabweichung von 2,2 % auf. Das durch die Apherese gewonnene buffy coat plasma (BCP) erreichte eine Aggregationsrate von durchschnittlich 87,3 % und lag damit um 6,1 % unter dem Wert des Testbluts. Am größten fiel die Abnahme der Aggregationsrate mit 7,7 % in der 125-ml-Glocke aus, in welcher ein Mittelwert von 85,8 % erreicht wurde. Die geringste Abnahme fand sich mit 4,7 % in der 225-ml-Glocke, welche im BCP eine durchschnittliche Aggregationsrate von 88,6 % vorzuweisen hatte. Zwischen diesen Extrema lagen die Glocken BT55 und BT175 mit mittleren Aggregationsraten von

86,9 bzw. 87,9 %, was im Vergleich mit dem Testblut Abnahmen um 6,5 bzw. 5,4 % entsprach. Signifikant bzw. hochsignifikant war diese Verschlechterung der Aggregation gegenüber dem Testblut mit $P = 0,016$ und $0,008$ in den Glocken BT175 bzw. BT225, während die Glocken BT55 und BT125 mit $P = 0,160$ bzw. $0,095$ über dem Signifikanzniveau von 5 % lagen. Die relativen Standardabweichungen der Aggregationsraten zeigten Parallelen zu deren Abnahmen gegenüber dem Testblut: So wies die 225-ml-Glocke mit 1,6 % den kleinsten Variationskoeffizienten auf, während die 125-ml-Glocke mit 7,7 % den größten vorzuweisen hatte und die Glocken BT55 und BT175 mit relativen Standardabweichungen von 4,8 bzw. 2,3 % zwischen diesen Extremwerten anzusiedeln waren. Zwischen den Glocken der verschiedenen Größen zeigten sich im BCP mit $0,421 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Differenzen bezüglich der Thrombozytenaggregation.

Die sechsstündige Lagerung der Proben führte mit $0,151 \leq P \leq 1,000$ weder im Testblut, noch im BCP zu signifikanten Änderungen der Thrombozytenaggregation. Mit 92,8 % zeigte sich die Aggregationsrate des Testbluts nach sechsständiger Lagerung nahezu unverändert, obgleich deren relative Standardabweichung mit 3,4 % leicht zunahm. Im BCP nahm die Thrombozytenaggregationsrate im Schnitt um 2,7 % ab und erreichte so einen Mittelwert von 84,9 %. Betrachtete man die einzelnen Glocken, so zeigte sich eine negative Korrelation zwischen Glockengröße und Ausmaß der lagerungsbedingten Abnahme der Aggregationsrate: Diese sank von 5,3 % in der 55-ml-Glocke über 4,6 und 1,1 % in den Glocken BT125 bzw. BT175 auf 0,0 % in der 225-ml-Glocke. Somit betrugen die lagerungsbedingten Aggregationsraten in den einzelnen Glocken – mit aufsteigender Glockengröße – 82,3 %, 81,9 %, 86,9 % und 88,6 %. Die relativen Standardabweichungen der Aggregationsraten des für 6 Stunden gelagerten BCP lagen mit Werten zwischen 4,1 und 11,1 % (BT225 bzw. BT125) durchgehend über jenen des „frischen“ BCP. Auch nach der sechsständigen Lagerung wiesen die Glocken der unterschiedlichen Größen untereinander mit $0,095 \leq P \leq 0,690$ bezüglich der Thrombozytenaggregation keine signifikanten Differenzen auf.

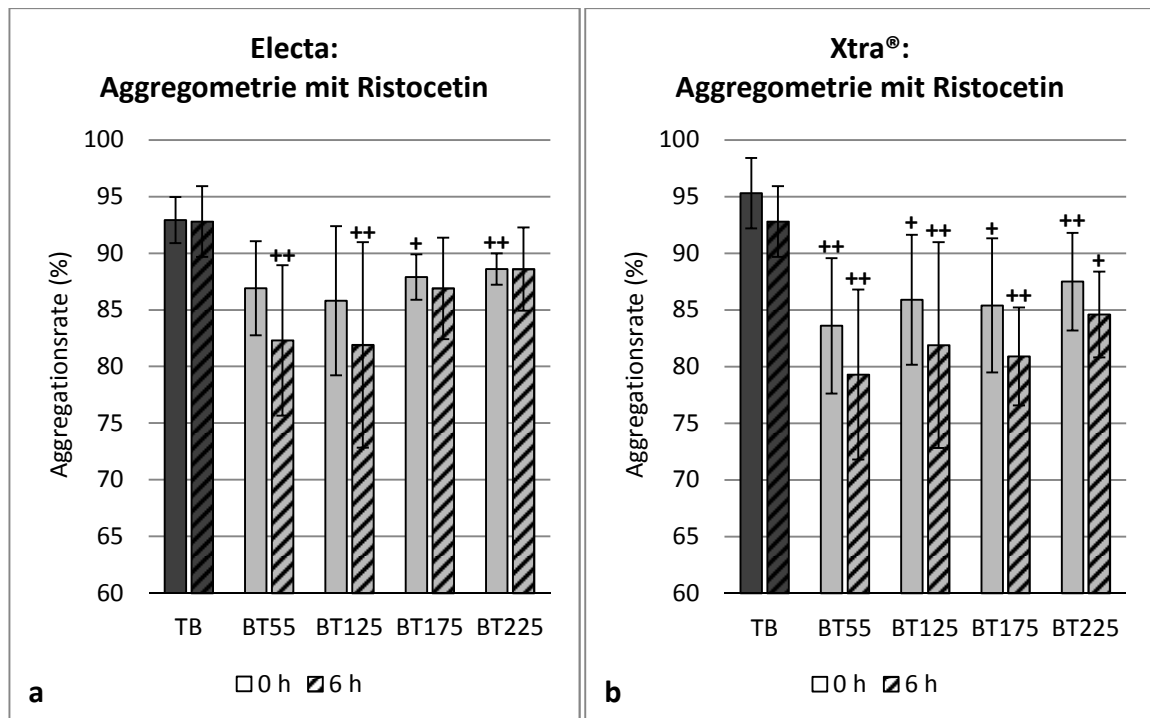


Abbildung 4-21. Aggregometrie mit Ristocetin. Durch die Zugabe von Ristocetin wurde in Proben mit definierter Konzentration an Thrombozyten die Agglutination selbiger initiiert, was zu einer Erhöhung der Transmission führte. Als Aggregationsrate von 100 % wurde die bei vollständiger Agglutination der Thrombozyten vorliegende Transmission definiert. Die Proben stammten aus Testblut (TB) und buffy coat plasma (BCP) der vier erhältlichen Glockengrößen (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225), jeweils vor (0 h) und nach sechsstündiger Lagerung (6 h; gestreifte Säulen). Pluszeichen über den Säulen markieren signifikante (+ für $0,05 > P \geq 0,01$) und hochsignifikante (++) für $P < 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut. Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsstündiger Lagerung vor, und auch zwischen den Ergebnissen der Geräte „Electa“ und „Xtra®“ zeigten sich keine signifikanten Differenzen. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

Xtra®

Das Testblut für die Xtra®-Versuche wies bei einem Variationskoeffizienten von 3,3 % eine mittlere Thrombozytenaggregationsrate von 95,3 % auf. Im BCP fanden sich durchgehend signifikant ($P = 0,016$ für BT125 und BT175) oder hochsignifikant ($P = 0,008$ für BT55 und BT225) niedrigere Aggregationsraten als im Testblut. Diese Differenz gegenüber dem Testblut belief sich im Schnitt auf 10,2 % und führte zu einem Mittelwert von 85,6 %. Im Einzelnen lagen die Glocken BT125 und BT175 mit Aggregationsraten von 85,9 bzw. 85,4 % um 9,9 bzw. 10,4 % unter dem Wert des Ausgangsblutes, während die Glocken BT55 und BT225 mit Aggregationsraten von 83,6 bzw. 87,5 % um 12,3 bzw.

8,2 % niedrigere Werte aufwiesen als das Testblut. Wie auch in den Electa-Versuchen zu beobachten, zeigten die Variationskoeffizienten der Thrombozytenaggregationsraten im BCP Parallelen zum Ausmaß der Differenzen zwischen den Aggregationsraten von Testblut und BCP: Die 55-ml-Glocke wies mit 7,2 % die größte relative Standardabweichung vor, während die 225-ml-Glocke mit 4,9 % die geringste bot und die Glocken BT125 und BT175 mit Variationskoeffizienten von 6,7 bzw. 6,9 % zwischen diesen Extremwerten lagen. Untereinander zeigten die einzelnen Glocken mit $0,548 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Thrombozytenaggregationsrate des BCP.

Nach sechsständiger Lagerung wiesen zwar sämtliche Proben eine Verringerung der Thrombozytenaggregationsrate auf – von Signifikanz war diese mit $0,222 \leq P \leq 0,548$ jedoch nie. Bei einem Mittelwert von 92,8 % und einem Variationskoeffizienten von 3,4 % betrug die Abnahme der Aggregationsrate im Testblut gegenüber dem Ausgangswert 2,6 %. Das BCP wies mit einem Mittelwert von 81,7 % eine lagerungsbedingte Verringerung der Aggregationsrate um 4,6 % auf. Die höchsten Abnahmen der Aggregationsraten wiesen im BCP mit 5,1 und 5,3 % die Glocken BT55 und BT175 auf, welche Mittelwerte von 79,3 bzw. 80,9 % vorzuweisen hatten. Geringer fielen diese Abnahmen mit 4,7 und 3,3 % in den Glocken BT125 bzw. BT225 aus, welche durchschnittliche Aggregationsraten von 81,9 und 84,6 % aufwiesen. Nach sechsständiger Lagerung des BCP erhöhten sich die relativen Standardabweichungen der Aggregationsraten in den Glocken BT55 und BT125 auf 9,5 bzw. 11,1 %, während sie sich in den Glocken BT175 und BT225 auf 5,3 bzw. 4,5 % verringerten. Zwischen den Glocken der verschiedenen Größen bestanden auch nach der sechsständigen Lagerung mit $0,222 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Unterschiede.

Verglichen mit den Electa-Versuchen wies das Testblut der Xtra®-Versuchsreihe eine um 2,6 % höhere mittlere Thrombozytenaggregationsrate auf. Diese Differenz erwies sich mit $P = 0,222$ jedoch als nicht signifikant. Ebenfalls nicht von Signifikanz waren mit $0,421 \leq P \leq 0,841$ die Differenzen zwischen den Aggregationsraten des BCP der beiden untersuchten Geräte: In den Glocken BT55, BT175 und BT225 lag die Xtra® um 3,8 %, 2,8 % und 1,2 % unter den Werten der Electa, während die Thrombozytenaggregationsrate der Xtra® in der 125-ml-Glocke um 0,1 % höher lag als jene der Electa.

4.2.10 Aktivierung der Thrombozyten – β -Thromboglobulin

Electa

Einen der Messparameter zur Quantifizierung der Thrombozytenaktivierung stellte die Konzentration an β -Thromboglobulin dar, welche in Abbildung 4-22 graphisch dargestellt wird. Bei Betrachtung dieses Parameters sollte bedacht werden, dass die Konzentration an Thrombozyten im buffy coat plasma (BCP) im Schnitt 6,3-mal so hoch lag wie im Testblut, während sie im pure plasma (PP) lediglich 30,4 % der Konzentration des Testbluts entsprach.

Die β -Thromboglobulinkonzentration betrug im Testblut der Electa im Schnitt 139 IE/ml und unterlag einer relativen Standardabweichung von 40,3 %. Im BCP nahm die Konzentration an β -Thromboglobulin im Schnitt um 2.422 IE/ml zu und betrug bei einem Mittelwert von 2.561 IE/ml das 18,4-fache der Ausgangskonzentration des Testbluts. Dabei waren in den einzelnen Glocken Zunahmen auf das 15,5- bis 21,6-fache (BT225 bzw. BT175) des Ausgangswertes und somit auf Konzentrationen von 2.158 bis 3.000 IE/ml zu verzeichnen. Zwischen diesen Extremwerten lagen die Glocken BT125 und BT55, die im BCP β -Thromboglobulinkonzentrationen von 2.319 bzw. 2.767 IE/ml aufwiesen, was dem 16,7- bzw. 19,9-fachen des Ausgangswertes entsprach. Die relativen Standardabweichungen der β -Thromboglobulinkonzentration des BCP lagen in den Glocken BT125 und BT175 bei 18,5 bzw. 19,5 %, in der 225-ml-Glocke bei 36,9 % und in der 55-ml-Glocke bei 49,3 %, sodass im Durchschnitt eine relative Standardabweichung von 31,0 % zu beobachten war. Mit $P = 0,008$ erwiesen sich die Differenzen in der Konzentration an β -Thromboglobulin zwischen BCP und Testblut in allen Glocken als hochsignifikant. Zwischen den einzelnen Glocken der verschiedenen Größen zeigten sich im BCP hinsichtlich der β -Thromboglobulinkonzentration mit $0,095 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Differenzen.

Im PP waren ebenfalls β -Thromboglobulinkonzentrationen zu beobachten, die stets um ein Vielfaches über jenen des Testbluts lagen. Im Einzelnen fanden sich im PP Werte von 1.241 IE/ml (BT55), 391 IE/ml (BT125), 422 IE/ml (BT175) und 875 IE/ml (BT225).

Somit betrug die β -Thromboglobulinkonzentration des PP in den Glocken BT125 und BT175 mit Zunahmen um 252 bzw. 284 IE/ml das 2,8- bzw. 3,0-fache der durchschnittlichen β -Thromboglobulinkonzentration des Testbluts, während in den Glocken BT55 und BT225 mit Erhöhungen um 1.102 bzw. 736 IE/ml der 8,9- bzw. 6,3-fache Wert dieser Konzentration vorlag. Im PP der 175-ml-Glocke fand sich eine relative Standardabweichung der β -Thromboglobulinkonzentration von 14,4 %, in den Glocken BT125 und BT225 von 23,3 bzw. 25,2 % und in der 55-ml-Glocke von 48,1 %, sodass im Schnitt eine relative Standardabweichung von 31,0 % zu verzeichnen war. Gegenüber dem Testblut erwiesen sich die Zunahmen der β -Thromboglobulinkonzentrationen des PP in allen Glocken mit $P = 0,008$ als hochsignifikant. Auch zwischen den verschiedenen Glockengrößen gab es im PP hinsichtlich der Konzentration β -Thromboglobulin meist signifikante ($P = 0,016$) Unterschiede – Ausnahmen bildeten hier die Glocken BT55 und BT225 sowie die Glocken BT125 und BT175 mit $P = 1,000$ bzw. $P = 0,548$.

Hochsignifikant unterschieden sich mit $P = 0,008$ auch die β -Thromboglobulinkonzentrationen des PP und des BCP der Glocken BT125 und BT175: In der 125-ml-Glocke lag die Konzentration an β -Thromboglobulin im PP um 83,1 % (1.928 IE/ml) unter jener des BCP, in der 175-ml-Glocke um 86,0 % (2.578 IE/ml). Dass die Konzentrationen an β -Thromboglobulin im PP der Glocken BT55 und BT225 um 55,1 bzw. 59,5 % (1.526 bzw. 1.283 IE/ml) unter jenen des BCP lagen, erwies sich demgegenüber mit $P = 0,056$ als nicht signifikant.

Während der sechsständigen Lagerung der Proben bei Raumtemperatur nahm die Konzentration an β -Thromboglobulin des Testbluts mit $P = 0,008$ hochsignifikant um 1.643 IE/ml zu und erreichte mit 1.782 IE/ml das 12,8-fache des Ausgangswertes. Dabei lag die relative Standardabweichung mit 38,8 % in etwa auf dem gleichen Niveau wie vor der sechsständigen Lagerung. Das BCP hatte nach der sechsständigen Lagerung in allen Glocken hochsignifikant höhere Konzentrationen an β -Thromboglobulin vorzuweisen als vor besagter Lagerung: In den Glocken BT55 und BT175 stieg die Konzentration an β -Thromboglobulin um 7.084 bzw. 7.928 IE/ml auf 9.850 bzw. 10.928 IE/ml und damit jeweils auf das 3,6-fache des Ausgangswerts an; in den Glocken BT125 und BT225 nahm

sie um 7.847 bzw. 6.867 IE/ml zu und erreichte so mit Durchschnittswerten von 10.166 bzw. 9.024 IE/ml jeweils das 4,4- bzw. 4,2-fache der ursprünglichen Konzentration. Die relativen Standardabweichungen der β -Thromboglobulinkonzentrationen lagen im BCP nach der sechsstündigen Lagerung durchgehend etwas höher als davor: Geordnet nach steigender Glockengröße betrugen sie 34,4 %, 27,6 %, 21,9 % und 30,3 %, was einen Mittelwert von 28,4 % ergab. Zwischen den verschiedenen Glockengrößen waren im BCP auch nach der Lagerung über 6 Stunden mit $0,222 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Konzentration an β -Thromboglobulin auszumachen.

Im PP zeigte die Konzentration des β -Thromboglobulins mit $0,310 \leq P \leq 0,841$ keine signifikanten lagerungsbedingten Veränderungen. Zu beobachten waren in den Glocken BT55, BT125 und BT175 Zunahmen der β -Thromboglobulinkonzentrationen um 8,8 %, 2,1 % und 3,0 % (110 IE/ml, 8 IE/ml und 1 IE/ml) auf Mittelwerte von 1.351 IE/ml, 400 IE/ml und 423 IE/ml. In der 225-ml-Glocke war demgegenüber eine Abnahme dieser Konzentration um 3,6 % (31 IE/ml) auf durchschnittlich 844 IE/ml zu verzeichnen. Die relativen Standardabweichungen der β -Thromboglobulinkonzentrationen lagen im PP nach der sechsstündigen Lagerung durchgehend etwas höher als davor und erzielten Werte von 21,6 bis 53,5 % (BT175 bzw. BT55). Dazwischen lagen die Glocken BT225 und BT125 mit relativen Standardabweichungen von 26,0 bzw. 36,8 %, sodass sich für den Variationskoeffizienten ein Mittelwert von 39,1 % ergab. Wie bereits vor der sechsstündigen Lagerung im PP zu beobachten, wiesen die Glocken der verschiedenen Größen im direkten Vergleich meist signifikante ($P = 0,032$) oder hochsignifikante Differenzen in der Konzentration des β -Thromboglobulins auf ($P = 0,008$). Die signifikanten Unterschiede traten dabei auf, wenn man die 55-ml-Glocke mit einer der beiden nächstgrößeren Glocken verglich, die hochsignifikanten, wenn die 225-ml-Glocke mit einer der beiden nächstkleineren verglichen wurde. Insignifikant war andererseits mit $P = 1,000$ die Differenz zwischen den Glocken BT125 und BT175 sowie mit $P = 0,222$ jene zwischen den Glocken BT55 und BT225.

Xtra®

Wie bereits bei den Messungen mit der Electa erwähnt, sollte bei der Betrachtung der β -Thromboglobulinkonzentration (dargestellt in Abbildung 4-22) bedacht werden, dass die Konzentration an Thrombozyten im PP der Xtra®-Versuche lediglich 13,6 % des Werts erreichte, der im Testblut vorlag, während sie im BCP etwa das 6,3-fache jener Ausgangskonzentration betrug.

Im Testblut der Xtra®-Versuchsreihe erzielte die β -Thromboglobulinkonzentration bei einer relativen Standardabweichung von 28,2 % einen Mittelwert von 133 IE/ml. Das BCP wies durchgehend Konzentrationen an β -Thromboglobulin auf, die um ein Vielfaches höher lagen als im Testblut. Im Schnitt betrug die Zunahme 2.087 IE/ml, sodass das BCP die 16,7-fache β -Thromboglobulinkonzentration des Testbluts enthielt. Betrachtete man die Differenz der Konzentration an β -Thromboglobulin zwischen Testblut und BCP, so war in der 125-ml-Glocke mit 1.831 IE/ml die geringste Zunahme zu verzeichnen und in der 225-ml-Glocke mit 2.338 IE/ml die höchste. Dadurch erlangten die Glocken BT125 und BT225 mit Durchschnittswerten von 1.964 bzw. 2.472 IE/ml die 14,7- bzw. 18,6-fache β -Thromboglobulinkonzentration des Testbluts. Daneben waren in den Glocken der Größe 55- und 175-ml Zunahmen um 2.140 bzw. 2.038 IE/ml auf Mittelwerte von 2.273 bzw. 2.172 IE/ml zu verzeichnen, wodurch die 17,1- bzw. 16,3-fache Konzentration an β -Thromboglobulin des Testbluts erreicht wurde. Die relativen Standardabweichungen der β -Thromboglobulinkonzentrationen des BCP lagen in den Glocken BT55, BT125 und BT225 mit Werten von 19,0 %, 18,6 % und 17,3 % recht nahe beieinander und deutlich über den 10,2 %, welche in der 125-ml-Glocke zu verzeichnen waren. Im BCP sämtlicher Glocken erwies sich die Zunahme der β -Thromboglobulinkonzentration gegenüber dem Testblut mit $P = 0,008$ als hochsignifikant. Vergleich man das BCP der verschiedenen Glocken hinsichtlich der β -Thromboglobulinkonzentration miteinander, so ergaben sich mit $0,095 \leq P \leq 0,690$ keine signifikanten Unterschiede.

Das PP wies ebenfalls durchgehend Konzentrationen an β -Thromboglobulin auf, die um ein Vielfaches über jenen des Testbluts lagen. So erzielten die Glocken BT55 und BT225 mit Zunahmen um 1.220 bzw. 1.153 IE/ml Mittelwerte von 1.353 bzw. 1.287 % und

damit das 10,2- bzw. 9,7-fache der Konzentration des Testbluts. Demgegenüber erreichten die Glocken BT125 und BT175 signifikant bzw. hochsignifikant ($P = 0,016$ bzw. $P = 0,008$) niedrigere Zunahmen der β -Thromboglobulinkonzentration, die sich auf 514 bzw. 334 IE/ml beliefen und damit zu Durchschnittswerten von 648 bzw. 467 IE/ml führten, was jeweils dem 4,9- bzw. 3,5-fachen des Ausgangswertes entsprach. Als relative Standardabweichung der β -Thromboglobulinkonzentration waren im PP der Glocken BT55 und BT225 Werte von 22,0 bzw. 28,0 % zu verzeichnen, während sich in den Glocken BT125 und BT175 Werte von 34,4 bzw. 40,8 % fanden. Fasste man die relativen Standardabweichungen der einzelnen Glocken zusammen, so ergab sich ein Mittelwert von 31,3 %. Mit $P = 0,008$ hob sich die β -Thromboglobulinkonzentration des PP in allen Glocken hochsignifikant von jener des Testbluts ab. Verglich man die Glocken der verschiedenen Größen hinsichtlich ihrer β -Thromboglobulinkonzentration im PP, so zeigte sich, wie bereits erwähnt, dass die Glocken BT125 und BT175 signifikant bzw. hochsignifikant niedrigere Werte vorzuweisen hatten als die Glocken BT55 und BT225. Untereinander ergaben sich weder für die Glocken BT125 und BT175, noch für die Glocken BT55 und BT225 signifikante Differenzen ($P = 0,222$ bzw. $P = 0,690$).

Gegenüber dem PP wies das BCP im Schnitt eine um 58,5 % (1.282 IE/ml) höhere Konzentration an β -Thromboglobulin auf. Am höchsten fiel der Unterschied zwischen PP und BCP mit 78,5 % (1.705 IE/ml) in der 175-ml-Glocke aus, während die 55-ml-Glocke mit einem Wert von 40,5 % (920 IE/ml) die geringste Differenz aufwies. Das Mittelfeld bildeten die Glocken BT125 und BT225, deren β -Thromboglobulinkonzentrationen des PP um 67,0 bzw. 48,0 % (1.316 bzw. 1.185 IE/ml) unter jenen des BCP lagen. Dabei fielen die Unterschiede in der Konzentration an β -Thromboglobulin zwischen PP und BCP mit $P = 0,008$ in allen Glocken hochsignifikant aus.

Im Rahmen der sechsständigen Lagerung der Proben bei Raumtemperatur war im Testblut der Xtra®-Versuchsreihe ein mit $P = 0,008$ hochsignifikanter Anstieg der Konzentration an β -Thromboglobulin zu verzeichnen, der gegenüber dem Ausgangswert von 133 IE/ml im Schnitt 1.884 IE/ml betrug und somit zu einem Mittelwert von 2.017 IE/ml führte, was dem 15,1-fachen des Ausgangswertes entsprach. Mit einem Wert von 22,6 %

lag die relative Standardabweichung der β -Thromboglobulinkonzentration des Testbluts nach der sechsstündigen Lagerung etwas niedriger als davor.

Die Konzentrationen an β -Thromboglobulin des BCP stiegen im Rahmen der sechsstündigen Lagerung ebenfalls durchgehend hochsignifikant ($P = 0,008$) an und übertrafen die Ausgangswerte stets um ein Mehrfaches. Mit steigender Glockengröße fanden sich im BCP nach der sechsstündigen Lagerung Konzentrationen von 8.450, 8.768, 8.736 und 9.085 IE/ml, was bei Zunahmen von 6.178, 6.804, 6.564 und 6.613 IE/ml den 3,7-, 4,5-, 4,0- und 3,7-fachen Konzentrationen der Ausgangswerte entsprach. Im Schnitt war so eine Zunahme der Konzentration an β -Thromboglobulin um 6.540 IE/ml auf 8.760 IE/ml und damit eine Erhöhung des ursprünglichen Wertes auf das 4,0-fache zu beobachten. Die relativen Standardabweichungen der β -Thromboglobulinkonzentrationen des BCP lagen in den Glocken BT55, BT175 und BT225 mit Werten von 7,0 %, 9,8 % und 10,4 % deutlich niedriger als vor der Lagerung. In der 125-ml-Glocke zeigte sich mit 11,7 % eine minimale Erhöhung des Variationskoeffizienten. Im Mittel lag die relative Standardabweichung bei 9,7 %. Signifikante Unterschiede zwischen den β -Thromboglobulinkonzentrationen des BCP der verschiedenen Glocken traten mit $0,310 \leq P \leq 0,841$ auch nach der sechsstündigen Lagerung nicht auf.

Das PP wies nach Lagerung der Proben über 6 Stunden bei Raumtemperatur zwar durchgehend höhere Konzentrationen an β -Thromboglobulin auf, mit $0,662 \leq P \leq 1,000$ waren diese Zunahmen, die zwischen 1,8 und 12,0 % (BT125 bzw. BT175) betrugen, jedoch in keiner Glocke von Signifikanz. Zwischen den Glocken BT125 und BT175, deren Konzentrationen an β -Thromboglobulin gegenüber den Ausgangswerten um 12 bzw. 56 IE/ml auf Mittelwerte von 660 bzw. 523 IE/ml zunahmen, lagen die Glocken BT55 und BT225 mit Konzentrationserhöhungen um 7,3 bzw. 5,2 % (98 bzw. 67 IE/ml) auf Durchschnittswerte von 1.451 bzw. 1.354 IE/ml. Die relativen Standardabweichungen der β -Thromboglobulinkonzentrationen des gelagerten PP beliefen sich auf 10,8 % (BT55), 35,7 % (BT125), 25,0 % (BT175) sowie 20,0 % (BT225) und lagen damit – mit Ausnahme der 125-ml-Glocke – deutlich unter den Variationskoeffizienten, die vor der Lagerung zu beobachten waren. Im Durchschnitt ergab sich so im gelagerten PP eine relative Stan-

dardabweichung von 22,9 %. Vergleich man die verschiedenen Glockengrößen hinsichtlich der β -Thromboglobulinkonzentration des gelagerten PP miteinander, so erwiesen sich lediglich die Differenzen der Glocken BT55 und BT225 sowie jene der Glocken BT125 und BT175 mit $P = 0,421$ als nicht signifikant, während die anderen Kombinationen mit $P = 0,008$ stets hochsignifikante Unterschiede aufwiesen.

Verglichen mit der Electa-Versuchsreihe wies das Testblut der Xtra®-Versuche eine um 4,2 % (6 IE/ml) geringere Konzentration an β -Thromboglobulin auf, was sich mit $P = 0,841$ allerdings als nicht signifikant erwies.

Im BCP der Xtra®-Versuche lag die Konzentration an β -Thromboglobulin in den Glocken BT55, BT125 und BT175 um jeweils 17,9 % (494 IE/ml), 15,3 % (355 IE/ml) und 27,6 % (828 IE/ml) unter jener der Electa-Versuche, während sie in der 225-ml-Glocke um 14,6 % (314 IE/ml) darüber lag. Dem Signifikanzniveau von 5 % am nächsten kam dabei die 175-ml-Glocke mit $P = 0,056$ – die anderen Glocken lagen mit $0,222 \leq P \leq 0,841$ weit über diesem Niveau.

Das PP der Xtra®-Versuche wies durchgehend höhere Konzentrationen an β -Thromboglobulin auf als jenes der Electa-Versuchsreihe, wobei die Differenzen von 9,0 % (112 IE/ml) in der 55-ml-Glocke bis 65,5 % (256 IE/ml) in der 125-ml-Glocke reichten. Signifikant war dabei mit $P = 0,032$ lediglich der Konzentrationsunterschied der 125-ml-Glocke, während die Glocken BT175 und BT225 mit Differenzen von 10,8 bzw. 47,1 % (45 bzw. 412 IE/ml) und $P = 0,841$ das Signifikanzniveau ebenso verfehlten wie die 55-ml-Glocke mit $P = 0,690$.

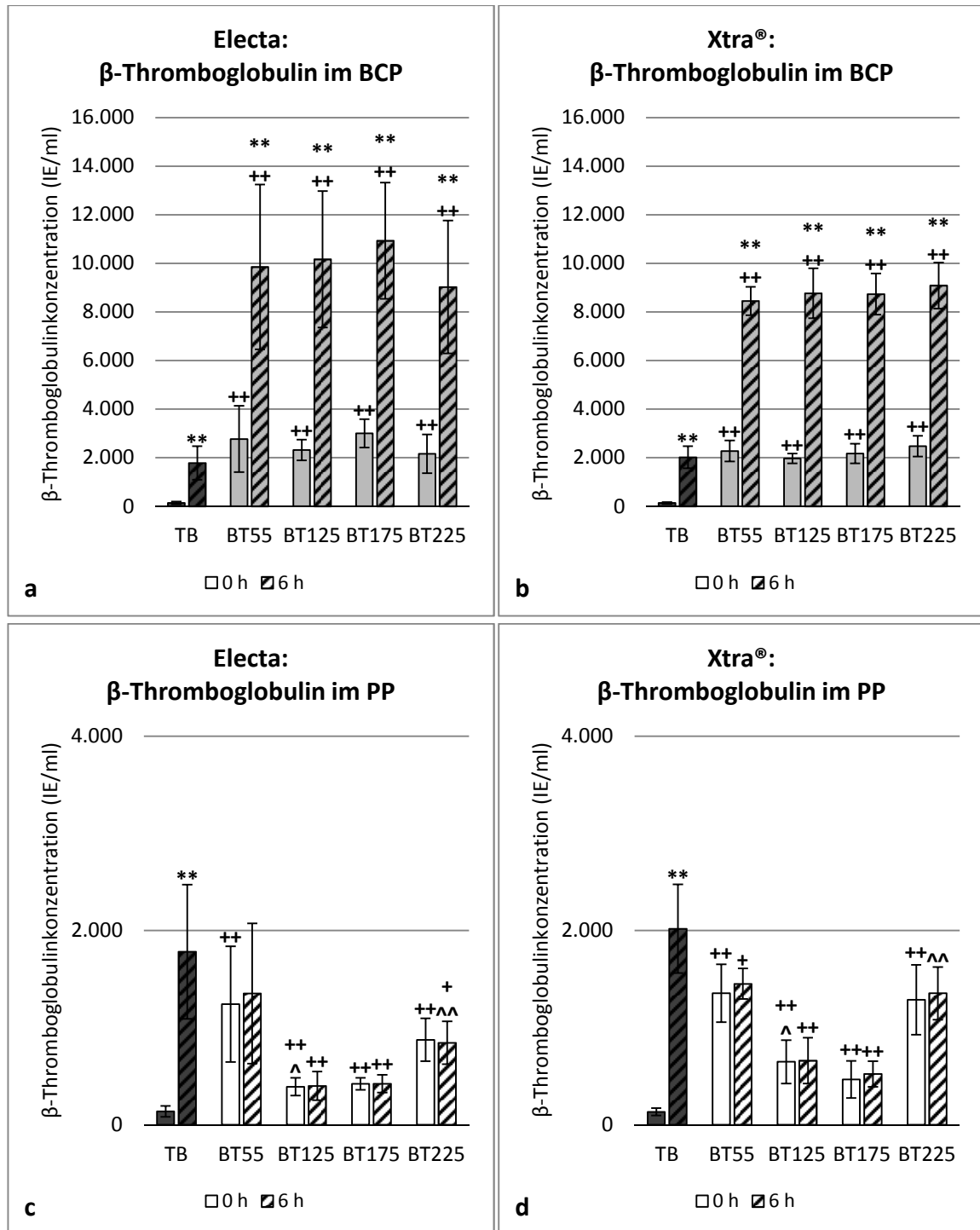


Abbildung 4-22. Konzentration an β -Thromboglobulin. Bezogen auf die Proben „Testblut“ (TB), „buffy coat plasma“ (BCP; Abbildungen **a** und **b**) und „pure plasma“ (PP; Abbildungen **c** und **d**) der vier verschiedenen Glockengrößen (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) vor (0 h) und nach sechsständiger Lagerung (6 h; gestreifte Säulen). Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut, Sternchen (*) signifikante Differenzen zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsständiger Lagerung. Zirkumflexe (^) stellen signifikante Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“ dar. Doppelte Symbole (++, **, ^) repräsentieren hochsignifikante ($P < 0,01$) Differenzen. **a** BCP der Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** BCP der Xtra® (ebenfalls Sorin). **c** PP der Electa. **d** PP der Xtra®

4.2.11 Aktivierung der Thrombozyten – lösliches P-Selektin

Electa

Die Konzentration an löslichem P-Selektin (sP-Selektin) wurde neben der Konzentration an β -Thromboglobulin als alternativer Parameter der Thrombozytenaktivierung bestimmt und in Abbildung 4-23 als Säulendiagramm dargestellt. Wie auch bei Betrachtung der β -Thromboglobulinkonzentration sollte hierbei bedacht werden, dass die Konzentration an Thrombozyten im buffy coat plasma (BCP) im Schnitt 6,3-mal so hoch lag wie im Testblut, während sie im pure plasma (PP) lediglich 30,4 % der Konzentration betrug, welche im Testblut vorlag.

Im Testblut lag der Spiegel an löslichem P-Selektin bei 30,3 ng/ml und unterlag einer relativen Standardabweichung von 13,0 %. Das BCP wies mit einem Mittelwert von 61,8 ng/ml eine Konzentration an löslichem P-Selektin auf, die doppelt so hoch lag wie im Testblut. Dabei stieg in den Glocken BT55, BT175 und BT225 die Konzentration an löslichem P-Selektin von 63,1 über 65,9 auf 66,0 ng/ml an, was gegenüber dem Testblut Steigerungen um 32,8 ng/ml, 35,5 ng/ml und 35,7 ng/ml entsprach. Nicht ganz in dieses Schema passte allerdings die 125-ml-Glocke, deren sP-Selektinkonzentration im BCP lediglich um 22,2 ng/ml über jener des Testbluts lag und damit einen Wert von 52,5 ng/ml erreichte, was der 1,7-fachen Konzentration des Testbluts entsprach. Demgegenüber betrug die sP-Selektinkonzentration der 55-ml-Glocke das 2,1-fache der Ausgangskonzentration und jene der Glocken BT175 und BT225 das 2,2-fache. Die relative Standardabweichung der sP-Selektinkonzentration des BCP fiel in den Glocken BT125 und BT175 mit 14,4 bzw. 15,5 % am geringsten aus, lag in der 55-ml-Glocke mit 36,6 % deutlich höher und in der 225-ml-Glocke mit 41,3 % am höchsten. Als Mittelwert ergab sich für die relative Standardabweichung der sP-Selektinkonzentration damit ein Wert von 27,0 %. Dieser über alle Glocken gemittelte Wert lag mit $P = 0,000$ hochsignifikant über jenem des Testbluts. Betrachtete man die Glocken im Einzelnen, so zeigten sich mit $P = 0,008$ zwar auch meist hochsignifikante Differenzen – die 55-ml-Glocke bildete hierbei mit $P = 0,095$ allerdings eine Ausnahme. Mit $0,095 \leq P \leq 1,000$ waren zwischen den Glocken

der verschiedenen Größen hinsichtlich der Konzentration an löslichem P-Selektin keine signifikanten Unterschiede auszumachen.

Das PP hatte, über alle Glockengrößen gemittelt, bei einer relativen Standardabweichung von 15,9 % im Schnitt eine sP-Selektinkonzentration von 29,4 ng/ml vorzuweisen. Damit lag diese Konzentration lediglich um 3,1 % (0,9 ng/ml) unter jener des Testbluts. Mit $P = 1,000$ erwies sich dieser Unterschied als insignifikant und auch bei Betrachtung der einzelnen Glocken lagen mit $P \geq 0,690$ hinsichtlich der sP-Selektinkonzentration nie signifikante Differenzen zwischen Testblut und PP vor. Zwischen den PP-Proben der unterschiedlichen Glockengrößen traten mit $0,222 \leq P \leq 1,000$ ebenfalls nie signifikante Differenzen in der Konzentration an sP-Selektin auf.

Verglichen mit dem BCP lag die Konzentration an freiem P-Selektin im PP um 52,5 % (29,4 ng/ml) niedriger. Über alle Glockengrößen gemittelt lag diese Differenz mit $P = 0,000$ auf einem höchst signifikanten Niveau, obgleich sich besagter Unterschied in der 55-ml-Glocke mit $P = 0,095$ als nicht signifikant herausstellte. In den Glocken aller anderen Größen erwiesen sich die Differenzen in der sP-Selektinkonzentration zwischen PP und BCP jedoch mit $P = 0,008$ stets als hochsignifikant.

Nach sechsständiger Lagerung der Proben bei Raumtemperatur war im Testblut eine mit $P = 0,222$ insignifikante Erhöhung der Konzentration an löslichem P-Selektin um 13,8 % (4,2 ng/ml) auf 34,5 ng/ml zu beobachten. Mit durchschnittlich 11,3 % unterschied sich die relative Standardabweichung der sP-Selektinkonzentration des Testbluts nach der sechsständigen Lagerung kaum von jener des Ausgangswertes.

Im BCP bedingte die sechsständige Lagerung in allen Glocken eine Erhöhung der Konzentration an löslichem P-Selektin. Am geringsten ausgeprägt war diese Zunahme in der 225-ml-Glocke, in der sie 3,9 % (2,6 ng/ml) betrug und zu einem Mittelwert von 68,6 ng/ml führte. Die Glocken BT55 und BT125 hingegen hatten mit Erhöhungen der sP-Selektinkonzentration um 33,0 bzw. 35,2 % (20,8 bzw. 18,5 ng/ml) auf Durchschnittswerte von 83,9 bzw. 71,0 ng/ml die höchsten Zunahmen vorzuweisen. Zwischen diesen Extremen lag mit einer sP-Selektinkonzentrationserhöhung von 15,1 % (9,9 ng/ml) auf 75,8 ng/ml die Glocke BT175. Signifikant waren besagte Zunahmen mit $0,151 \leq P \leq 0,512$

jedoch in keiner einzigen Glocke. Die relativen Standardabweichungen des gelagerten BCP zeigten gegenüber den Ausgangswerten keinen eindeutigen Trend: Während sie in den Glocken BT125 und BT175 mit 25,4 bzw. 27,5 % höher lagen als vor der Lagerung, zeigten sie in den Glocken BT55 und BT225 mit 28,6 bzw. 10,3 % deutliche Abnahmen. Im Schnitt ergab sich so eine relative Standardabweichung von 23,4 %. Zwischen den verschiedenen Glockengrößen zeigten sich im BCP auch nach sechsständiger Lagerung der Proben mit $0,421 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Differenzen hinsichtlich der Konzentration an löslichem P-Selektin.

Als kaum beeinflusst durch die sechsständige Lagerung erwies sich auch die sP-Selektinkonzentration im PP, die gegenüber dem Ausgangswert eine mit $P = 0,222$ insignifikante Abnahme um 4,9 % (1,4 ng/ml) auf einen Mittelwert von 28,0 ng/ml zu verzeichnen hatte. Die relative Standardabweichung der sP-Selektinkonzentration des PP lag mit 19,8 % nach der Lagerung über 6 Stunden etwas höher als davor. Auch nach sechsständiger Lagerung des PP wiesen die Glocken der verschiedenen Größen untereinander mit $0,310 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Differenzen in der Konzentration des löslichen P-Selektins auf.

Xtra®

Wie schon bei den Messungen mit der Electa erwähnt, sollte bei Betrachtung der Konzentration an löslichem P-Selektin (dargestellt in Abbildung 4-23) bedacht werden, dass die Thrombozytenkonzentration im PP der Xtra®-Versuchsreihe lediglich 13,6 % des Werts des Testblutes erreichte, während sie im BCP etwa das 6,3-fache jener Ausgangskonzentration betrug.

Im Testblut der Xtra®-Versuche lag bei einer relativen Standardabweichung von 7,8 % eine durchschnittliche sP-Selektinkonzentration von 33,4 ng/ml vor. Verglichen mit dem Testblut wies das BCP in allen Glocken durchgehend höhere Konzentrationen an löslichem P-Selektin auf. Im Schnitt lag diese Erhöhung bei 46,9 % (15,7 ng/ml) und führte zu einem Durchschnittswert von 49,1 ng/ml. In den einzelnen Glocken wurden dabei sP-Selektinkonzentrationen von 43,8 bis 53,1 ng/ml (BT125 bzw. BT225) erreicht, was

Zunahmen um 31,1 bzw. 58,9 % (10,4 bzw. 19,7 ng/ml) gegenüber dem Testblut entsprach. Die Glocken BT55 und BT175 bildeten mit sP-Selektinkonzentrationen von 50,0 bzw. 49,4 ng/ml und damit Konzentrationserhöhungen um 49,6 bzw. 48,0 % (16,6 bzw. 16,0 ng/ml) das Mittelfeld. Dabei lagen die relativen Standardabweichungen der Konzentrationen an sP-Selektin im BCP mit Werten von 43,2 % (BT55), 30,4 % (BT125), 34,2 % (BT175) und 44,0 % (BT225) in allen Glocken auf einem hohen Niveau. Über alle Glocken gemittelt betrug die relative Standardabweichung 37,9 %. Betrachtete man die Glocken der verschiedenen Größen separat, so erreichten die Differenzen der sP-Selektinkonzentrationen von Testblut und BCP mit $P = 0,016$ lediglich in der 175-ml-Glocke Signifikanz, während sie in den anderen Glocken mit $0,151 \leq P \leq 0,548$ insignifikant blieben. Vergleich man allerdings sämtliche BCP-Proben hinsichtlich der sP-Selektinkonzentration mit dem Testblut, ohne dabei die unterschiedlichen Glockengrößen zu berücksichtigen, so lagen die Differenzen mit $P = 0,051$ nur denkbar knapp über dem Signifikanzniveau von 5 %. Untereinander wiesen die Glocken der verschiedenen Größen mit $0,548 \leq P \leq 1,000$ ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der sP-Selektinkonzentration des BCP auf.

Das PP wies im Mittel eine sP-Selektinkonzentration von 17,6 ng/ml auf, die einer relativen Standardabweichung von 31,5 % unterlag. Damit fand sich die Konzentration an löslichem P-Selektin des PP um 64,2 % (31,5 ng/ml) unter jener des Testbluts, was sich mit $P = 0,000$ als hochsignifikant erwies. Signifikante Unterschiede in der sP-Selektinkonzentration der einzelnen Glocken waren mit $0,222 \leq P \leq 1,000$ nicht auszumachen.

Nach sechsständiger Lagerung der Proben bei Raumtemperatur wies das Testblut eine sP-Selektinkonzentration von 39,4 ng/ml und damit eine lagerungsbedingte Zunahme von 17,9 % (6,0 ng/ml) auf, sowie eine relative Standardabweichung von 7,8 %. Mit $P = 0,016$ erwies sich diese Erhöhung der sP-Selektinkonzentration als signifikant.

Das BCP aller Glocken wies nach der sechsständigen Lagerung höhere Konzentrationen an sP-Selektin auf als davor, wobei sich die Werte der einzelnen Glocken kaum voneinander unterschieden: So lag die sP-Selektinkonzentration in der 125-ml-Glocke bei 58,2 ng/ml, in den Glocken BT175 und BT225 bei 60,6 bzw. 60,4 ng/ml und in der 55-ml-

Glocke bei 62,4 ng/ml. Somit ergaben sich gegenüber dem Ausgangswert – geordnet nach ansteigender Glockengröße – Zunahmen von 24,9 % (12,4 ng/ml), 32,9 % (14,4 ng/ml), 22,6 % (11,2 ng/ml) und 13,8 % (7,3 ng/ml). Mit $0,222 \leq P \leq 0,421$ erreichten die lagerungsbedingten Zunahmen der sP-Selektinkonzentration des BCP in keiner Glocke das Signifikanzniveau von 5 % – verglich man jedoch die sP-Selektinkonzentrationen sämtlicher gelagerter BCP-Proben mit ihren Ausgangswerten, ohne dabei die Glockengrößen zu berücksichtigen, so lag die Differenz mit $P = 0,024$ im signifikanten Bereich. Die relativen Standardabweichungen der sP-Selektinkonzentrationen des BCP lagen nach der sechsständigen Lagerung durchgehend niedriger als davor und umfassten Werte von 20,6 bis 40,0 % (BT125 bzw. BT55). Mit Werten von 26,8 und 27,5 % in den Glocken BT175 bzw. BT225 ergab sich so für die sP-Selektinkonzentration des gelagerten BCP eine mittlere relative Standardabweichung von 28,7 %. Zwischen den verschiedenen Glockengrößen ergaben sich im BCP auch nach sechsständiger Lagerung der Proben bei Raumtemperatur mit $0,690 \leq P \leq 1,000$ keine signifikanten Differenzen hinsichtlich der Konzentration an löslichem P-Selektin.

Im PP war nach sechsständiger Lagerung lediglich eine mit $P = 0,253$ insignifikante Erhöhung der sP-Selektinkonzentration um 11,2 % (2,0 ng/ml) auf durchschnittlich 19,5 ng/ml auszumachen. Die relative Standardabweichung der sP-Selektinkonzentration lag mit 7,1 % nach der Lagerung ebenfalls etwas höher als davor. Unverändert blieb während der Lagerung die Signifikanz der Differenzen zwischen den sP-Selektinkonzentrationen des PP der verschiedenen Glocken: Auch nach besagter Lagerung erreichten diese mit $0,548 \leq P \leq 1,000$ nie das Signifikanzniveau von 5 %.

Im Vergleich mit den Electa-Versuchen wies das Testblut der Xtra®-Versuchsreihe lediglich eine mit $P = 0,421$ insignifikant höhere Konzentration an löslichem P-Selektin auf, wobei die Differenz 10,2 % (3,1 ng/ml) betrug.

Das BCP der Xtra®-Versuche zeigte gegenüber jenem der Electa-Proben in allen Glocken eine geringere Konzentration an löslichem P-Selektin. Die Differenzen beliefen sich dabei auf 16,6 und 19,6 % (8,7 und 12,9 ng/ml) in den Glocken BT125 bzw. BT225 sowie auf 20,8 und 25,0 % (13,1 und 16,4 ng/ml) in den Glocken BT55 und BT175, sodass im

BCP der Xtra®-Versuche im Mittel eine um 20,5 % (12,8 ng/ml) niedrigere Konzentration vorlag als in jenem der Electa-Versuchsreihe. Mit $0,222 \leq P \leq 0,548$ konnten die Differenzen zwischen den einzelnen Glocken der Electa- und der Xtra®-Versuche dabei keine Signifikanz vorweisen – ließ man jedoch die verschiedenen Glockengrößen außer Acht und verglich alle BCP-Proben der beiden Geräte miteinander, so fiel der Unterschied in der sP-Selektinkonzentration mit $P = 0,038$ signifikant aus.

Im PP konnte die Xtra® gegenüber der Electa eine hochsignifikant ($P = 0,000$) niedrigere Konzentration an löslichem P-Selektin vorweisen: Mit 19,5 ng/ml lag diese um 30,2 % (8,5 ng/ml) unter jener der Electa-Versuche.

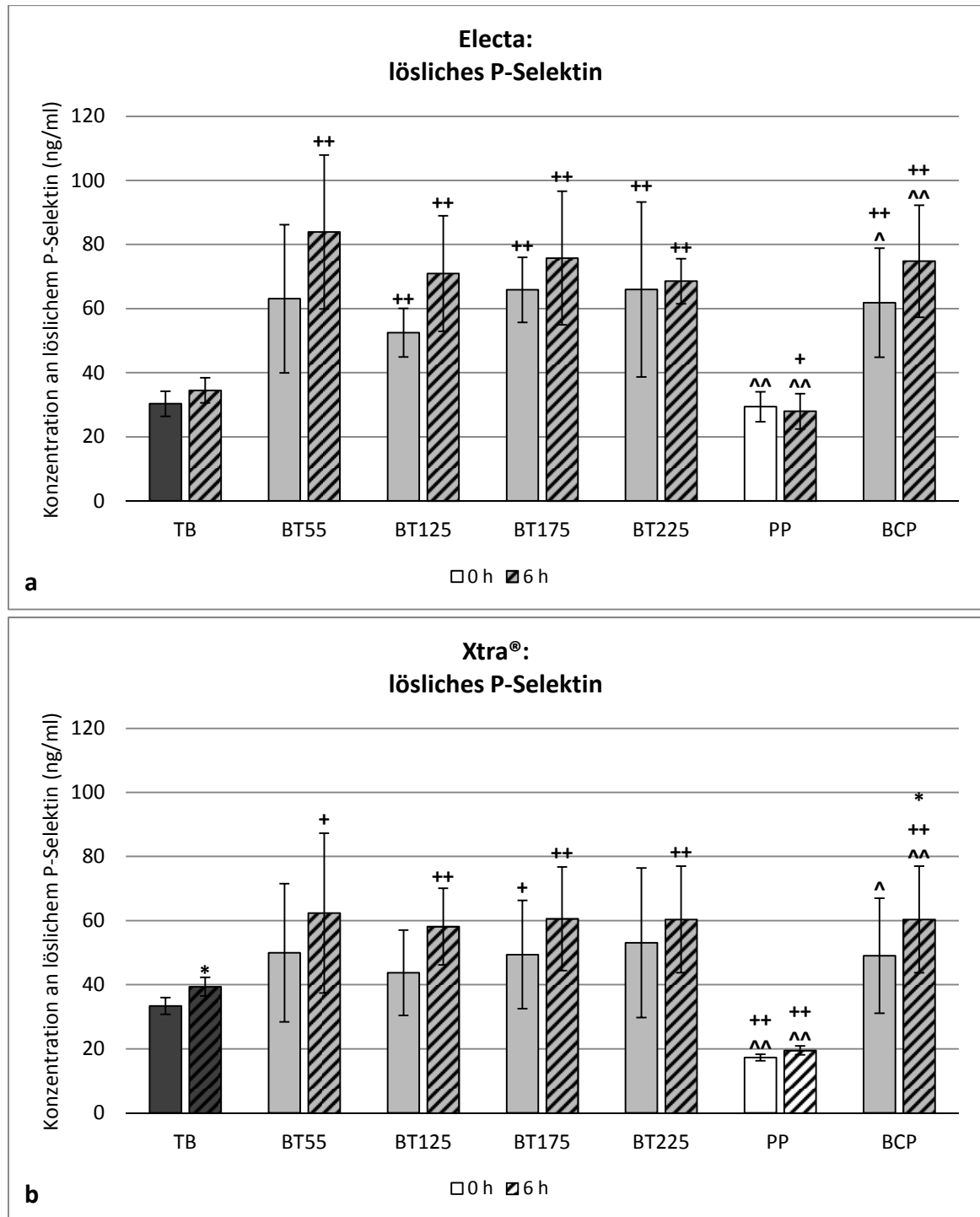


Abbildung 4-23. Konzentration an löslichem P-Selektin. Bezogen auf die Proben „Testblut“ (TB), „pure plasma“ (PP) und „buffy coat plasma“ (BCP) der vier unterschiedlichen Glockengrößen (55–225 ml in den Glocken BT55–BT225) vor (0 h) und nach sechsständiger Lagerung (6 h; gestreifte Säulen). Pluszeichen (+) über den Säulen markieren signifikante ($0,05 > P \geq 0,01$) Differenzen gegenüber dem Testblut, Sternchen (*) signifikante Differenzen zwischen unmittelbarer Untersuchung der Proben und Testung nach sechsständiger Lagerung. Zirkumflexe (^) stellen signifikante Differenzen zwischen den Geräten „Electa“ und „Xtra®“ dar. Doppelte Symbole (++, **, ^^) repräsentieren hochsignifikante ($P < 0,01$) Differenzen. **a** Electa Concept (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien). **b** Xtra® (ebenfalls Sorin)

5 Diskussion

5.1 Maschinelle Aufbereitung von Erythrozyten

5.1.1 Produkthämatokrit

Als Qualitätsparameter des erzeugten Erythrozytenkonzentrates ist der Hämatokrit eher indirekt von Bedeutung: Er gestattet einen Rückschluss auf die Glockenfüllung, welche wiederum Einfluss auf die Plasmaelimination hat [139]. Als vollständig gefüllt gilt eine Glocke, wenn ein Sensor des Gerätes erkennt, dass der buffy coat die obere Biegung der Glocke erreicht [149], wodurch die Wasch-Phase eingeleitet wird [82]. Erfolgt die Füllung der Glocke nicht bis zu diesem Punkt, so spricht man von einer unvollständig gefüllten Glocke [82]. In einer solchen unvollständig gefüllten Glocke erreicht die Erythrozytenbande nicht die innere Wand der Glocke [186]. Dies führt theoretisch dazu, dass sich an besagter Wand ein Flüssigkeitskorridor mit geringerem Widerstand bildet [186]. Dem Weg des geringsten Widerstands folgend kann die Waschlösung nun diesen Korridor durchströmen, anstatt die Erythrozytenbande zu durchdringen und dabei unerwünschte Komponenten mitzureißen [82, 186]. Obgleich unvollständig gefüllte Glocken ein Produkt mit geringerem Hämatokrit liefern [187], wird durch geringen Füllstand weniger die Erythrozytenausbeute als vielmehr die Plasmaelimination negativ beeinflusst [140]. Zu diesem Schluss kamen Hansen et al. 2004 [140] und Waters et al. 2003 [82], die in ihren Studien die Protein- bzw. Kalium-Eliminationsraten der MAT-Geräte „Electa“ (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) bzw. „Sequestra“ (Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA) bestimmten, während Szpisjak 2001 in einer Studie [186] mit der Medtronic Sequestra® 1000 ermittelte, dass unvollständig gefüllte Glocken zu Produkten mit niedrigerer Konzentration an freiem Hämoglobin führten als vollständig gefüllte. Basierend auf den Ergebnissen der neueren Studien wird empfohlen, den Produkthämatokrit als Indika-

tor unvollständiger Glockenfüllungen bei jeder maschinellen Autotransfusion mindestens einmal zu bestimmen [139]. Als Sollwert wird ein Produkthämatokrit von mindestens 50 % angegeben [139].

Die Sorin Xtra® konnte diesen Sollwert in der vorliegenden Studie nicht in allen Fällen erreichen. Im Notfallmodus lag der Produkthämatokrit maximal bei 45,4 % (55-ml-Glocke, Testblut mit 10 % Hämatokrit) und sank teilweise auf 37,9 % (225-ml-Glocke, Testblut mit 25 % Hämatokrit) ab. Auch im Standardprogramm „Pstd“ lag der Produkthämatokrit der Glocken BT55 und BT225 unter der 50-Prozent-Marke, wohingegen das Programm Popt mit Werten von 52,7 bis 58,3 % dieses Qualitätskriterium stets erfüllte. Den größten Einfluss auf den erzielbaren Produkthämatokrit hat daher in erster Linie die Wahl des Programmes, in zweiter Linie die Wahl der Glockengröße: Während im Programm Popt stets durchschnittliche Hämatokritwerte über 50 % zu beobachten waren, galt dies für das Programm Pstd lediglich in den Glocken der Größe 125- und 175-ml. Das Notfallprogramm „Pem“ lieferte in dieser Hinsicht in keiner Glocke zufriedenstellende Ergebnisse – vor allem für die Größen 125- und 175-ml ist mit unvollständig gefüllten Glocken zu rechnen. Der Hämatokrit des vorliegenden Testblutes hingegen hatte kaum einen Einfluss auf den erzielten Produkthämatokrit – lediglich im Notfallmodus lag dieser in der 125-ml-Glocke mit „Ortho“-Testblut hochsignifikant höher als unter Verwendung von „Cardio“-Testblut.

Betrachtet man das Ergebnisspektrum des Produkthämatokrits der Xtra® für die Programme Pstd und Popt (47,2 bis 58,3 %), so finden sich ähnliche Ergebnisse für die meisten im Umlauf befindlichen MAT-Geräte: autoLog® (Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA) [96], BRAT 2® (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) [80, 94], C.A.T.S (Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland) [95, 99], Cell Saver® 5 (Haemonetics Corp., Braintree, MA, USA) [89], Compact-A (Dideco S.p.A., Mirandola, Italien) [89], Electa (Sorin) [97, 98], HaemoLite® 3 (Haemonetics) [89], Sequestra® (Medtronic) [89, 95], Sequestra® 1000 (Medtronic) [80] und ZITI-2000 (New Nature Co., Ltd., Beijing, China) [94]. In anderen Studien – oder teils auch in denselben Studien unter Verwendung anderer Parameter – finden sich für die Geräte autoLog® [80, 89, 96], BRAT 2® [87],

C.A.T.S [80, 85, 87, 89, 95, 99-101], Cell Saver® 5 [87], Compact-A [87] und Sequestra® [87] allerdings auch höhere Werte für den durchschnittlich erzielten Produkthämatokrit. Vereinzelt kommen für den Produkthämatokrit der Geräte BRAT 2® [95], Cell Saver® 5 [80, 143] und Sequestra® [95] auch zu teils deutlich niedrigeren Ergebnissen. Die mit aufgeführte Studie von Shulman [95] zeigt dabei auch, dass die Flussrate (in dieser Studie eine Kombination aus Füll-, Wasch- und Leer-Geschwindigkeit der Zentrifugenglocken) einen wesentlichen Einfluss auf den erreichten Produkthämatokrit ausübt: So erzielten BRAT 2® und Sequestra® beim Einsatz von Testblut mit 10 % Hämatokrit mit der geringsten Flussrate einen Hämatokrit von 49 bzw. 55 %, während mit der höchsten Flussrate lediglich Werte von 9 bzw. 5 % zu verzeichnen waren. Als ursächlich für diesen geringen Hämatokrit kann die Füllgeschwindigkeit der Glocke angesehen werden: Je geringer die Füllgeschwindigkeit gewählt wird, desto langsamer füllt sich die Glocke und desto länger sind die Erythrozyten dem Schwerfeld der Zentrifuge ausgesetzt, was zu einer höheren Dichte der Erythrozytenbande und somit insgesamt zu einer höheren Konzentration an Erythrozyten in der Glocke führt [81].

5.1.2 Proteinelimination

Die Proteinelimination (oder auch: -auswaschraten) bietet sich als Indikator der gesamten Plasmaelimination an, da diese nicht nur leicht und im Routinebetrieb eines Labors der klinischen Chemie bestimmt werden kann, sondern auch repräsentativ ist für klinisch relevante Parameter wie aktivierte Faktoren, Mediatoren, Zytokine und Enzyme [140]. Um ein Produkt von angemessener Qualität zu erzeugen, sollte die Eliminationsrate dabei über 90 % betragen [139].

In der vorliegenden Studie übertraf die Sorin Xtra® diese geforderte Eliminationsrate von 90 % in allen Fällen. Auffallend war dabei das schlechte Abschneiden der 225-ml-Glocke, die beim Einsatz von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %) in Abhängigkeit des verwendeten Programmes lediglich Proteinauswaschraten von 92,1 bis 96,6 % erreichte. Interessanterweise lieferte das Notfallprogramm in dieser Glocke mit durchschnittlich

94,3 % eine bessere Eliminationsrate als das Standardprogramm, welches lediglich einen Wert von 92,1 % erzielte. In allen anderen Glocken lag die Proteinelimination des Notfallprogramms signifikant oder hochsignifikant niedriger als jene des Standardprogramms, welches sich in diesen Glocken hinsichtlich der Proteinelimination auch nicht signifikant vom Programm Popt unterschied. Mit Werten von 98,7 bis 99,2 % erreichten die Programme Pstd und Popt in den Glocken BT125 und BT175 auch unter Verwendung von „Cardio“-Testblut ausgezeichnete Eiweißauswaschraten. Des Weiteren zeigte sich, dass der Hämatokrit des Testblutes einen großen Einfluss auf die Effizienz der Proteinelimination ausübt: Lag dieser lediglich bei 10 % (Testblut „Ortho“), so erzielten die Glocken BT55, BT125 und BT175 selbst im Notfallprogramm Auswaschraten von über 98 %. Auch die 225-ml-Glocke wies unter Verwendung von „Ortho“-Testblut Proteineliminationsraten zwischen 97,1 und 98,7 % auf. In den Glocken der Größe 125- und 175-ml erreichte die Eiweißauswaschraten des „Ortho“-Testblutes in den Programmen Pstd und Popt Durchschnittswerte von über 99,4 %. Die zumeist signifikante oder hochsignifikante Erhöhung der Proteinelimination beim Wechsel von „Cardio“- auf „Ortho“-Testblut lässt sich durch die damit einhergehende längere Verarbeitungszeit erklären, die zu einer vermehrten Zell-Separation sowie zu einer gründlicheren Elimination des Überstandes führt.

In der Literatur finden sich nur relativ wenige Studien, die bei der Untersuchung von MAT-Geräten die Proteinelimination aufführen. Geiger et al. testeten in einer Studie [89] aus dem Jahr 1998 insgesamt 7 verschiedene Geräte zur Maschinellen Autotransfusion. Als Testblut diente dabei eine Mischung aus Vollblut und Erythrozytenkonzentraten, welche mittels isotonischer Kochsalzlösung auf einen Hämatokrit von ca. 20 % eingestellt wurde. Im Einzelnen befasste sich diese Studie mit folgenden Geräten: Medtronic autoLog®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5, Dideco Compact-A (Glocken der Größe 225- und 55-ml), Haemonetics HaemoLite® 3, Haemonetics OrthoPAT® und Medtronic Sequestra®. Keines dieser Geräte konnte dabei die Eiweißauswaschraten übertreffen, welche die Sorin Xtra® in den Glocken BT55, BT125 und BT175 erreichte. Lediglich die auffallend niedrige Proteineliminationsrate von 92,1 %, welche in der 225-ml-Glocke der Xtra® im Programm Pstd auftrat, konnte von drei Geräten übertroffen werden:

dem Haemonetics HaemoLite® 3 (92,6 %), dem Fresenius C.A.T.S (92,8 %) sowie dem Haemonetics OrthoPAT® (93,3 %). Drei der von Geiger et al. untersuchten Geräte (Sequestra®, autoLog® und Compact-A) erreichten nicht die vom Qualitätsmanagement geforderte Eiweißauswaschrates von 90 %. Während die beiden erstgenannten Geräte bei Glockengrößen von 225- bzw. 130-ml dieser Schwelle mit Auswaschraten von 88,4 bzw. 87,2 % noch relativ nahe kamen, unterbot die Compact-A diesen Wert unter Verwendung der 55-ml-Glocke mit einer Proteineliminationsrate von 79,7 % deutlich. Bemerkenswert ist dabei, dass die Compact-A in derselben Studie bei Verwendung der 225-ml-Glocke mit einer Proteineliminationsrate von 90,8 % ein bedeutend besseres Ergebnis erzielte. Weitere Studien von Geiger et al. 1997 [96] sowie von Nitescu et al. 2002 [100] ergaben für die Geräte autoLog® (125-ml-Glocke) bzw. C.A.T.S Proteinauswaschraten von 98 bzw. 98,7 %, wobei auf Wundblut orthopädischer Operationen (Hämatokrit ca. 15 %) bzw. mit Kochsalzlösung verdünnte, frische Blutspenden (Hämatokrit ca. 38 %) zurückgegriffen wurde. Untersuchungen von Hansen et al. [98] auf der Basis von Wundblut ergaben für die 125-ml-Glocke der Sorin Electa – dem Vorgängermodell der Xtra® – eine durchschnittliche Proteinelimination von 98,8 %. Dies entspricht den Werten, welche die Xtra® mit Glocken der gleichen Größe in den Programmen Popt und Pstd beim Einsatz von „Cardio“-Testblut erreichte.

Ogleich die Ergebnisse von Geiger et al. [89] zeigen, dass die Produktqualität eines MAT-Gerätes mitunter entscheidend von der Größe der verwendeten Glocke abhängt, existieren bisher kaum Studien, welche die verschiedenen Glocken eines MAT-Gerätes unter den gleichen experimentellen Bedingungen direkt miteinander vergleichen.

5.1.3 Erythrozytenausbeute

Die Erythrozytenausbeute stellt mithin den wichtigsten Parameter der Effizienz eines MAT-Gerätes dar. Sie gibt direkt an, welcher Prozentsatz der mit dem Wundblut gesammelten Erythrozyten dem Patienten in Form des gewonnenen Erythrozytenkonzentrates wieder zugeführt werden kann. Da eine Verhinderung oder Verringerung des Einsatzes

von Fremdblut ein Hauptziel der maschinellen Autotransfusion darstellt, lässt sich deren Effektivität an der Menge Blut messen, die ein Patient beim Einsatz dieser Geräte verlieren kann, bevor ihm wegen Unterschreiten eines Schwellenwertes des Hämatokrits allogene Erythrozytenkonzentrate verabreicht werden müssen. Wird dieser Schwellenwert mit 21 % festgelegt, so kann beispielsweise ein Patient mit einem Blutvolumen von 5.000 ml und einem Hämatokrit von 45 % ca. 3.840 ml Blut verlieren, bevor er diese Schwelle unterschreitet [188]. Können jedoch im Rahmen einer maschinellen Autotransfusion mit einer 125-ml-Glocke pro Aufbereitungsvorgang 60 % der Erythrozyten, die das Gefäßsystem verlassen haben, wieder in selbiges überführt werden, so steigt das Volumen an tolerablem Blutverlust auf 9.600 ml an [188]. Mit linear ansteigender Erythrozytenausbeute erhöht sich dieses Volumen des maximal tolerablen Blutverlustes exponentiell: Liegt die Erythrozytenausbeute bei 70 statt bei 60 %, so erhöht sich dieses Maximalvolumen um ca. 43 % auf 13.750 ml [188]. Bereits kleine Änderungen der Erythrozytenausbeute können demnach das Blutvolumen, dessen Verlust der Patient noch ohne die Hilfe von Fremdblut kompensieren kann, entscheidend vergrößern [82].

Dabei darf natürlich nicht außer Acht gelassen werden, dass ein MAT-Gerät nur jene Erythrozyten „retten“ kann, die auch im Sammelreservoir landen – daher sollte unter anderem darauf geachtet werden, blutgetränkte Tupfer, Tücher und Kompressen zwecks Rückgewinnung des Blutes auszuwaschen [189], die Bildung von Blutkoageln so gut wie möglich zu unterbinden und zu verhindern, dass Wundblut in größerem Umfang das sterile OP-Gebiet verlässt. Von jenen Erythrozyten, die letztlich im Reservoir des MAT-Gerätes landen, sollten nach Hansen et al. [139] über 80 % in das produzierte Erythrozytenkonzentrat überführt werden.

In der vorliegenden Studie erreichte die Erythrozytenausbeute der Sorin Xtra® in den Programmen Pstd und Popt stets Werte über 90 % und lag damit deutlich über dem Sollwert. Die mit 97,3 bzw. 97,6 % höchsten Ausbeuten erreichte dabei die 125-ml-Glocke bei Verwendung von Testblut mit einem Hämatokrit von 25 % (Testblut „Cardio“). Das Notfallprogramm „Pem“ führte zwar nur in den Glocken BT55 und BT125 bei Verwendung von „Cardio“-Testblut zu (hoch)signifikant niedrigeren Erythrozytenausbeuten als das

Standardprogramm, lag allerdings in der 55-ml-Glocke bei zwei von fünf Messungen mit Werten von 71,9 und 76,2 % unterhalb des Sollwertes von 80 %. Mit „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) traten in der 55-ml-Glocke hingegen nie Erythrozytenausbeuten von weniger als 90 % auf.

Nach den Ergebnissen einer Studie von Melo et al. aus dem Jahr 2005 [97] erlangte die Electa – Sorins Vorgängermodell der Xtra® – mit einer 125-ml-Glocke und unter Verwendung von Wundblut, welches bei cardiologischen Operationen anfiel, eine Erythrozytenausbeute von lediglich 87 %. Somit erreichte die Electa zwar leicht den Sollwert von 80 %, lag allerdings um ca. 10 Prozentpunkte unter dem Wert, den das Nachfolgemodell Xtra® mit der gleichen Glockengröße und ähnlichem Testblut erzielen konnte. Auf Wundblut basierende Untersuchungen von Hansen et al. [98] ergaben für die Erythrozytenausbeute der 125-ml-Glocke der Electa mit durchschnittlich 91,4 % Werte, welche zwar über jenen lagen, die Melo et al. [97] ermittelten, aber dennoch nicht die hohen Ergebnisse der Xtra® erreichten. Eine Studie von Geiger et al. [89] kam 1998 zu dem Ergebnis, dass die Geräte Medtronic autoLog®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5, Dideco Compact-A (mit 225-ml-Glocke), Haemonetics HaemoLite® 3 und Medtronic Sequestra® allesamt eine Erythrozytenausbeute von 80 % aufwiesen, während das Haemonetics OrthoPAT® lediglich eine Ausbeute von 75 % erlangte und die Compact-A beim Einsatz der 55-ml-Glocke nur einen Wert von 70 % vorweisen konnte. Als Testblut kam in dieser Studie eine Mischung aus Vollblut und Erythrozytenkonzentraten zum Einsatz, welche mittels isotonischer Kochsalzlösung auf einen Hämatokrit von ca. 20 % verdünnt wurde [89]. Eine Studie von Serrick et al. [80] kam 2003 unter Verwendung von Wundblut cardiologischer Operationen für das Gerät Medtronic autoLog® mit einer Erythrozytenausbeute von 78,6 % auf ein ähnliches Ergebnis, ermittelte aber gleichzeitig für Cell Saver® 5 und C.A.T.S mit Werten von 93,6 bzw. 86,7 % höhere Ausbeuten. Die ebenfalls in der Studie von Serrick et al. [80] getesteten Geräte BRAT 2® (Sorin Group Italia S.r.l., Mirandola, Italien) und Sequestra® 1000 (Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA) erlangten Erythrozytenausbeuten von 93,5 bzw. 76,4 %. Shulman [95] hatte in einer Studie aus dem Jahr 2000 mittels Testblut aus frischen Erythrozyten- und Plasmakonzentra-

ten für das Gerät BRAT 2[®] mit einer durchschnittlichen Ausbeute von 94,2 % bereits sehr ähnliche Ergebnisse erlangt, während die ebenfalls getesteten Apparate C.A.T.S und Sequestra[®] mit Erythrozytenausbeuten zwischen 94,8 und 97,0 % bzw. 86,6 und 95,2 % deutlich höhere Ergebnisse erzielten als in den oben genannten Studien [80, 89]. Den Standardabweichungen nach zu urteilen wurden in besagter Studie [95] für die Geräte C.A.T.S und Sequestra[®] mitunter Erythrozytenausbeuten von über 100 % errechnet. Eine Studie von Westphal-Varghese et al. [99] aus dem Jahr 2007 hatte für das Fresenius C.A.T.S ähnliche Ergebnisse zu verzeichnen. In besagter Studie [99], welche als Testblut abgelaufene, unverdünnte Erythrozytenkonzentrate mit einem durchschnittlichen Hämatokrit von 59 % verwendete, erzielte das C.A.T.S mit den Waschprogrammen „quality“ und „emergency“ Erythrozytenausbeuten von durchschnittlich 92 bzw. 97 %. Sicherlich erwähnenswert ist hierbei die Schwankungsbreite der genannten Ergebnisse: Als oberes Quartil der Erythrozytenausbeute des Waschprogramms „emergency“ geben die Autoren einen Wert von 111 % an [85]. Demnach überführte das C.A.T.S in mindestens 25 % der Testläufe deutlich mehr Erythrozyten in den Produktbeutel, als ihm im Reservoir zur Verfügung standen. Einen Erklärungsansatz für diese Ungereimtheit nennen die Autoren der Studie nicht. Nutescu et al. ermittelten für das C.A.T.S in einer Studie aus dem Jahr 2002 [100] eine Erythrozytenausbeute von 79,8 bis 87,5 % bei einem Medianwert von 86,1 %. Damit erbrachte diese auf frischen Vollblutspenden mit einem mittleren Hämatokrit von 37,9 % basierende Studie in Hinsicht auf die Erythrozytenausbeute des C.A.T.S in etwa die gleichen Ergebnisse wie die Studie von Serrick et al. aus dem Jahr 2003 [115].

5.1.4 Elimination von freiem Hämoglobin

Hämoglobin, ein Chromoprotein, dessen Hauptaufgabe im Transport von Sauerstoff und Kohlendioxid besteht [190], findet sich zum weitaus größten Teil innerhalb der Erythrozyten, zu deren Zellmasse es ein Drittel beiträgt [191]. Wird die Zellmembran der Erythrozyten beschädigt oder zerstört, so tritt Hämoglobin in das umgebende Plasma aus, wo es zunächst rasch von Haptoglobin gebunden wird [190]. Sobald die Kapazitäten des

Haptoglobins jedoch erschöpft sind, steigt die Konzentration an freiem Hämoglobin im Plasma [190]. Die Konzentration an freiem Hämoglobin ermöglicht somit Rückschlüsse auf das Ausmaß der Zerstörung der erythrozytären Zellmembranen, welche auch als „Hämolyse“ bezeichnet wird [192]. Als Qualitätsparameter findet die Hämolyse auch in den Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten der Bundesärztekammer von 2003 [24] Verwendung, nach denen die Hämolyserate leukozytendepletierter Erythrozytenkonzentrate am Ende der zulässigen Lagerungsfähigkeit nicht mehr als 0,8 % der Erythrozytenmasse betragen darf. Erythrozytenkonzentrat, welches im Rahmen der maschinellen Autotransfusion gewonnen wird, sollte nach Hansen et al. [139] weniger als 200 Milligramm freies Hämoglobin pro Deziliter enthalten. Einiges spricht jedoch dagegen, die Konzentration an freiem Hämoglobin oder dessen Eliminationsrate als Qualitätsparameter der ersten Wahl zu betrachten. So ist die Bestimmung von freiem Hämoglobin kein laborchemischer Routineparameter – seine Ermittlung ist relativ teuer und langwierig sowie zudem störanfällig: Eine im Rahmen der Probenverarbeitung durchgeführte Zentrifugation bei 4.000 g_n könnte etwa bei den durch den MAT-Waschvorgang strapazierten Erythrozyten zu einer zusätzlichen Hämolyse führen [140]. Auch im Rahmen der Wundblutaufbereitung mittels MAT-Gerät kann es zu einer zusätzlichen Verletzung der Erythrozyten kommen: Hansen et al. stellten bei Versuchen über die schädigenden Effekte beim Ansaugen von Wundblut fest, dass sich im produzierten Erythrozytenkonzentrat teilweise höhere Mengen an freiem Hämoglobin fanden als im Ausgangsblut [140]. Die Autoren vermuteten, dass diese Hämolyse in erster Linie beim Leeren der Zentrifugenglocke auftrete, da die vorher abfließende Waschlösung zumeist keinen Hinweis auf das Vorliegen von freiem Hämoglobin böte [140]. Demnach ist die Konzentration an freiem Hämoglobin im Produktbeutel als „gemischter Parameter“ anzusehen, welcher zum einen davon abhängt, wie gründlich das vorbestehende freie Hämoglobin während der Wasch-Phase entfernt werden kann, zum anderen aber auch davon, wie viel Hämoglobin während oder nach dem Waschvorgang aus beschädigten Erythrozyten zusätzlich freigesetzt wird. Da die Abscheidung des freien Hämoglobins im Rahmen der Wasch-Phase denselben physikalischen Prinzipien unterliegt wie die Auswaschung der restlichen

Proteine, sollten sich die Eliminationsraten des gesamten Proteins und des freien Hämoglobins – welches eine Teilmenge des gesamten Proteins darstellt – nicht signifikant voneinander unterscheiden. Hämoglobin, welches allerdings erst nach der Wasch-Phase freigesetzt wird, würde sich in einer Eliminationsrate äußern, die niedriger liegt als jene des gesamten Proteins.

In der vorliegenden Studie lag die Eliminationsrate des freien Hämoglobins der Sorin Xtra® mit Werten zwischen 90,1 und 98,1 % immer niedriger als die Eliminationsrate des Gesamteiweißes. Diese Differenz betrug im Schnitt 2,1 % und war damit bis auf drei Ausnahmen stets signifikant oder hochsignifikant. Besagte Ausnahmen betrafen die Glocken BT55, BT125 und BT225 im Notfallprogramm „Pem“ bei Verwendung von Testblut mit einem Hämatokrit von 25 % (Testblut „Cardio“). Dabei sollte bedacht werden, dass mit diesem Testblut bereits die Proteinelimination des Notfallprogramms signifikant oder hochsignifikant niedriger lag als im Standardprogramm. Obgleich sich die Ergebnisse der Elimination des freien Hämoglobins mit wenigen Ausnahmen signifikant oder hochsignifikant von jenen der Proteinelimination unterschieden und zudem mit einer durchschnittlichen relativen Standardabweichung von 2,1 % eine über viermal so hohe Schwankungsbreite aufwiesen, korrelierten die beiden Eliminationsraten recht gut miteinander, was sich beispielweise an den auffallend niedrigen Werten der 225-ml-Glocke beobachten ließ.

Als Vorgängermodell der Xtra® erlangte die Sorin Electa in einer auf Wundblut basierenden Studie von Hansen et al. [98] mit der 125-ml-Glocke eine Eliminationsrate des freien Hämoglobins von 96 %, was recht genau jener Eliminationsrate entspricht, welche in der 125-ml-Glocke der Xtra® beobachtet werden konnte. Eine Studie von Melo et al. [97] aus dem Jahr 2005 ergab für die Sorin Electa mit der gleichen Glocke und unter Verwendung von Wundblut aus cardiologischen Operationen hingegen lediglich eine Eliminationsrate von 77 %. Ebenfalls recht niedrig lagen die Auswaschraten an freiem Hämoglobin, welche Geiger et al. [89] in einer Studie aus dem Jahr 1998 ermittelten. In dieser Studie testeten die Autoren die Autotransfusionsgeräte Medtronic autoLog®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5, Dideco Compact-A (Glocken der Größe 225- und

55-ml), Haemonetics HaemoLite® 3, Haemonetics OrthoPAT® und Medtronic Sequestra® mittels eines Gemisches aus Vollblut und Erythrozytenkonzentraten. Die niedrigste Auswaschrates an freiem Hämoglobin erreichte dabei die Compact-A mit der 55-ml-Glocke und einem Wert von 71,7 %, die höchste das OrthoPAT® mit einer Eliminationsrate von 87,3 %. Eine unter Verwendung von Wundblut aus cardiologischen Operationen durchgeführte Studie von Serrick et al. [80] aus dem Jahr 2003 bestätigte mit einem Wert von 85 % die von Geiger et al. [89] ermittelte Eliminationsrate des Cell Saver® 5. Für die ebenfalls getesteten Geräte C.A.T.S und autoLog® kamen Serrick et al. [80] bezüglich der Eliminationsrate des freien Hämoglobins jedoch zu anderen Ergebnissen als Geiger et al. [89]: Während erstere für C.A.T.S einen Wert von 65 % und für autoLog® einen von 92 % [80] ermittelten, schrieben letztere diesen beiden Geräten Auswaschraten von 80,9 bzw. 75,5 % [89] zu. Die Geräte Sorin BRAT 2® und Medtronic Sequestra® 1000 wiesen nach Serrick et al. [80] Eliminationsraten des freien Hämoglobins von 63 bzw. 89 % auf. In einer auf Wundblut aus Craniotomien basierenden Studie von Liang et al. [94] aus dem Jahr 2009 wird für das BRAT 2® hingegen eine Auswaschrates von 93,5 % beschrieben. Für das ebenfalls im Rahmen der Studie von Liang et al. [94] untersuchte Gerät ZITI-2000 (New Nature Co., Ltd., Beijing, China) gaben die Autoren eine Eliminationsrate an freiem Hämoglobin von 92,2 % an. Das bereits bei den Studien von Geiger et al. 1998 [89] und Serrick et al. 2003 [80] angesprochene Medtronic autoLog® ist auch Gegenstand einer Untersuchung von Geiger et al. [96] aus dem Jahr 1997. In besagter Studie von 1997 [96] ermittelten die Autoren bei der maschinellen Aufbereitung von intra- oder postoperativ gewonnenem Wundblut orthopädischer Operationen eine Auswaschrates an freiem Hämoglobin von 96 bzw. 90 %, was dem Ergebnis der Studie von Serrick et al. [80] recht nahe kam und damit wiederum deutlich über den 75,5 % lag, welche Geiger et al. 1998 [89] feststellten.

Drei der im oberen Absatz genannten Studien führten neben der Eliminationsrate des freien Hämoglobins zusätzlich die Auswaschrates des Gesamteiweißes auf. In diesen drei Studien wiesen die Eliminationsraten des freien Hämoglobins stets niedrigere Werte auf als jene des Gesamteiweißes. So lag nach Hansen et al. [98] die Auswaschrates des freien

Hämoglobins der Sorin Electa um 2,8 % unter jener des Gesamteiweißes, was sich gut mit den vorliegenden Ergebnissen der Sorin Xtra® deckt. Ebenfalls bei ca. 2 % lag nach Geiger et al. 1997 [96] die Differenz zwischen der Elimination von freiem Hämoglobin und Gesamteiweiß bei der Aufbereitung von intraoperativ gewonnenem Wundblut mittels Medtronic autoLog®, während das Waschen von postoperativ gewonnenem Wundblut mit demselben Gerät zu einer Differenz von 8,2 % führte. Die sieben von Geiger et al. 1998 [89] untersuchten MAT-Geräte wiesen Eliminationsraten an freiem Hämoglobin auf, die bei einem Mittelwert von 10,2 % zwischen 6,4 und 13,4 % niedriger lagen als jene des Gesamteiweißes.

Diese in der Literatur sowie auch in der vorliegenden Studie auftretende Diskrepanz zwischen den jeweiligen Eliminationsraten von freiem Hämoglobin und Gesamteiweiß bekräftigt die Annahme, dass der Großteil des freien Hämoglobins, der sich im Produktbeutel ansammelt, nicht als die unmittelbare Folge eines unzureichenden Waschvorganges – welchen die Proteinauswaschrates direkt repräsentiert – anzusehen ist, sondern vielmehr einer nach der Wasch-Phase auftretenden Hämolyse geschuldet ist, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit auch von der Vorschädigung der Erythrozyten abhängt. Eine solche Vorschädigung kann auch durch eine längerfristige Lagerung auftreten. Abgelaufene Blutkonserven – welche bekanntermaßen einen erhöhten Grad an Hämolyse als Ausdruck ebendieser Schädigung aufweisen können – sind daher als Ausgangsmaterial für die Testung von MAT-Geräten nicht zu empfehlen. Wie bereits weiter oben erwähnt, ergab sich in der vorliegenden Studie für die ermittelten Eliminationsraten des freien Hämoglobins der Xtra® mit 2,1 % eine relative Standardabweichung, die mehr als das Vierfache des Variationskoeffizienten der Proteinauswaschrates betrug. Diese im Vergleich mit der Eiweißauswaschrates ohnehin schon hohe Schwankungsbreite lag jedoch noch erheblich niedriger als jene, welche in den Studien von Melo et al. [97] sowie Serrick et al. [80] ermittelt wurden. So wies die Eliminationsrate des freien Hämoglobins der Electa in der Studie von Melo et al. [97] eine relative Standardabweichung von 22,1 % auf, während die Variationskoeffizienten der von Serrick et al. [80] für die Geräte autoLog®, Cell Saver® 5, Sequestra® 1000 und BRAT 2® ermittelten Auswaschrates Werte von 4,3 %, 7,1 %, 10,1 %

und 22,2 % annahmen. Für das Fresenius C.A.T.S ergab sich in dieser Studie [80] sogar eine relative Standardabweichung von 89,2 %. Diese – teilweise inakzeptabel – hohe Schwankungsbreite stellt einen weiteren Kritikpunkt an der Aussagekraft der Elimination des freien Hämoglobins als Parameter der Qualitätssicherung dar.

5.1.5 Kaliumelimination

Etwa 98 % der im menschlichen Körper vorhandenen Kaliumionen finden sich im Zellinneren, wo sie die größte Fraktion an Kationen ausmachen [193]. Ein Versagen der Natrium-Kalium-Pumpe, wie es bei Lagerungstemperaturen von 4 °C auftreten kann [99], oder eine Beschädigung der Zellmembran führen daher zu einem Ausströmen der Kaliumionen in das extrazelluläre Kompartiment [99, 194]. Die plasmatische Kaliumkonzentration lässt daher Rückschlüsse auf das Ausmaß einer vorliegenden Zellschädigung zu. So eignet sich nach Szpisjak et al. [195] die Kaliumkonzentration im Rahmen der maschinellen Autotransfusion ausgezeichnet für die Quantifikation von leukozytären und thrombozytären Zelltrümmern. Die Kaliumeliminationsrate ist jedoch nicht nur wegen ihrer Korrelation mit der Auswaschrage von Zelltrümmern und anderen unerwünschten plasmatischen Komponenten ein Bestandteil vieler Studien [80, 89, 94, 96, 97, 99, 100]. Ebenso stellt eine zu hohe Konzentration an Kaliumionen im gewaschenen Erythrozytenkonzentrat ein direktes Risiko für den Patienten dar, zumal eine möglicherweise auftretende Hyperkaliämie zu schweren Herzrhythmusstörungen führen kann [99, 194]. In einer Studie von 2003 beschreiben Serrick et al. [80] Kalium neben Albumin als einen guten Indikator für die Wascheffizienz von maschinellen Autotransfusionsgeräten, weshalb eine Kaliumeliminationsrate von mindestens 90 % auf einen effektiven Waschvorgang schließen lasse [80]. Demgegenüber beinhalten die „Vorschläge zum internen Qualitätsmanagement bei der Retransfusion von intra- oder postoperativ gewonnenem Wund-/Drainageblut“ [139] – die explizit von den beiden gemeinsamen Kommissionen „Qualitätsmanagement und Qualitätssicherung“ und „Arbeitsausschuss Bluttransfusion“ der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin (DGAI) und dem

Berufsverband Deutscher Anästhesisten (BDA) empfohlen wurden [140] – weder die Konzentration, noch die Elimination von Kaliumionen als Qualitätsparameter der maschinellen Autotransfusion.

Die für das MAT-Gerät Sorin Xtra® in der vorliegenden Studie ermittelten Kaliumeliminationsraten lagen mit einem Durchschnittswert von 94,7 % und Minimal- bzw. Maximalwerten von 90,7 und 95,9 % stets niedriger als die entsprechenden Auswaschraten des Gesamteiweißes, aber über dem von Serrick et al. [80] vorgeschlagenen Mindestmaß von 90 %. Bei einer durchschnittlichen Differenz von 3,1 % erwiesen sich die Unterschiede zwischen Kalium- und Gesamteiweißauswaschraten in 19 von 24 durchgeführten Testreihen als hochsignifikant, in zweien als signifikant und lediglich in 3 Fällen (beim Einsatz von Testblut mit 25 % Hämatokrit im Notfallprogramm der Glocken BT55 und BT125 sowie im Standardprogramm der 225-ml-Glocke) als nicht signifikant. Trotz dieser zu meist hochsignifikanten Differenzen zwischen Protein- und Kaliumauswaschraten zeigten beide Eliminationsparameter durchaus auch Parallelen, wie beispielsweise die deutlich geringeren Eliminationsergebnisse des Notfallprogramms in den Glocken BT55, BT125 und BT175 oder das auffallend niedrige Eliminationsniveau der 225-ml-Glocke. Während die Kaliumeliminationsrate somit meist hochsignifikant von der Eliminationsrate des Gesamteiweißes abwich, zeigte sie große Übereinstimmungen mit der Auswaschraten des freien Hämoglobins: Von dieser setzte sich die Kaliumeliminationsrate lediglich in 4 Fällen signifikant ab – beim Einsatz von Testblut mit 10 % Hämatokrit im Standardprogramm der Glocken BT55 und BT175 sowie im Notfallprogramm der Glocken BT55 und BT125. Das hohe Maß an Übereinstimmung dieser beiden Auswaschraten mag mitunter darin begründet liegen, dass es sich sowohl bei der Konzentration von Kalium als auch bei jener des freien Hämoglobins um einen „gemischten Parameter“ handelt, der maßgeblich von einer während oder nach dem eigentlichen Waschvorgang stattfindenden Zellschädigung beeinflusst wird. Mit einer mittleren relativen Standardabweichung von 1,5 % zeigten die Ergebnisse der Kaliumelimination dabei eine geringere Streubreite als jene der Auswaschraten des freien Hämoglobins, welche einen Variationskoeffizienten von 2,1 % aufwies. Da die Konzentration an Kaliumionen zudem mittels Blutgasanalysegerä-

ten kostengünstig und innerhalb von Minuten bestimmt werden kann, bietet sich deren Eliminationsrate als alternativer Parameter zur Auswaschrates des freien Hämoglobins an, zumal auch die Kaliumionenkonzentration einen Indikator für den Schaden sämtlicher Zellen darstellt, während freies Hämoglobin lediglich auf zerstörte Erythrozyten hinweist.

Kaliumeliminationsraten zwischen 91 und 96 %, wie sie bei den Testläufen der Sorin Xtra® zu beobachten waren, fanden sich auch – je nach Studie – bei einer Reihe anderer MAT-Geräte: 91 % Kaliumelimination fanden sich bei Sorin Electa [97], Sorin BRAT 2® [94] und Haemonetics Cell Saver® 5 [80], 92 % bei Fresenius C.A.T.S im Programm „quality“ [99] und bei Medtronic Sequestra® 1000 [80], 93,5 % bei Medtronic autoLog® [89], Fresenius C.A.T.S [89] und Dideco Compact-A mit 225-ml-Glocke [89], sowie 93,9 bzw. 94 % bei Haemonetics HaemoLite® 3 [89] und Haemonetics Cell Saver [99]. Über diesem Niveau lagen nach einer Studie von Geiger et al. [89] die Kaliumeliminationsrate der Dideco Compact-A beim Einsatz der 55-ml-Glocke mit 96,2 % sowie jene der Geräte Medtronic Sequestra® und Haemonetics OrthoPAT® mit jeweils 97,5 %. Auch die bereits genannten Geräte Medtronic autoLog® und Fresenius C.A.T.S schnitten in anderen Studien mit Kaliumeliminationsraten von 97 [96] bzw. 97,8 % [100] deutlich besser ab. Nach einer Studie von Serrick et al. [80] hingegen lag die Kaliumeliminationsrate von C.A.T.S und autoLog® genau auf bzw. 1 % unter der Marke von 90 %. Westphal-Varghese et al. [99] ermittelten in einer auf abgelaufenen Blutkonserven basierenden Studie für das C.A.T.S im Notfallprogramm sogar nur eine Kaliumeliminationsrate von 70 %. In besagter Studie von Serrick et al. [80] lagen die relativen Standardabweichungen der ermittelten Kaliumeliminationsraten im Schnitt bei 4,0 % und auch in der Studie von Melo et al. [97] (welche die Sorin Electa untersuchte) lag der Variationskoeffizient der Kaliumeliminationsrate bei 4,4 %. Angesichts dieser nicht zu vernachlässigenden Schwankungsbreite und der nur knapp über – bzw. im Falle des Medtronic autoLog® auch unter – der von Serrick et al. [80] vorgeschlagenen Grenze von 90 % liegenden Mittelwerte ist davon auszugehen, dass die getesteten Geräte in diesen beiden Studien oftmals nicht die geforderte Kaliumeliminationsrate von 90 % erreichten.

5.1.6 Erythrozytenproduktion

Die „Produktion“ an Erythrozyten bezeichnet in dieser Arbeit den Quotienten aus dem Volumen der im Rahmen der maschinellen Autotransfusion aufbereiteten Erythrozyten und der dazu benötigten Zeit. Damit stellt die Erythrozytenproduktion keinen Parameter der Qualität des gereinigten autologen Erythrozytenkonzentrates dar, sondern einen der Effizienz des verwendeten Programms, der gewählten Glockengröße oder des eingesetzten MAT-Gerätes.

Bei der im Rahmen der vorliegenden Studie untersuchten Sorin Xtra® zeigte sich ein großer Einfluss des gewählten Programms auf die Erythrozytenproduktion: In den Glocken BT55 und BT125 erzielte das Notfallprogramm „Pem“ gegenüber dem Standardprogramm „Pstd“ unabhängig vom Hämatokrit des Testblutes Verdopplungen der Erythrozytenproduktion. Unter Verwendung der 175-ml-Glocke und Testblut mit einem Hämatokrit von 25 % (Testblut „Cardio“) brachte ein Wechsel vom Standardprogramm auf das Notfallprogramm eine Erhöhung der Erythrozytenproduktion um 87 %, beim Einsatz von Testblut mit 10 % Hämatokrit (Testblut „Ortho“) stieg die Erythrozytenproduktion beim Programmwechsel um 64 %. Unerwarteterweise brachte der Programmwechsel von Pstd auf Pem bei Verwendung der 225-ml-Glocke keinerlei signifikante Veränderung der Erythrozytenproduktion mit sich. Das Programm Popt, welches laut Hersteller auf die Optimierung des Hämatokrits und der Verarbeitungsgeschwindigkeit ausgelegt ist [149], konnte sich bezüglich der Erythrozytenproduktion gegenüber dem Standardprogramm stets hochsignifikant absetzen. Die Unterschiede in der Erythrozytenproduktion dieser beiden Programme betrugen dabei im Schnitt etwa 15 %. Dabei trat die vom Hersteller beabsichtigte Optimierung des Programmes Popt im Sinne einer erhöhten Erythrozytenproduktion allerdings nur in den Glocken BT55, BT125 und BT175 ein, während in der 225-ml-Glocke eine Abnahme besagter Produktionsrate gegenüber dem Standardprogramm auszumachen war. Entscheidenden Einfluss auf die Erythrozytenproduktion übt neben der Wahl des Waschprogrammes auch die Wahl der Glockengröße aus: Im gleichen Waschprogramm gingen größere Glocken immer auch mit einer Erhöhung der Ery-

throzytenproduktion einher. Lediglich in zwei Fällen – und beide Male im Notfallprogramm – erwies sich die Zunahme der Erythrozytenproduktion beim Wechsel auf die nächstgrößere Glocke nicht als signifikant: zum einen beim Einsatz von „Cardio“-Testblut zwischen den Glocken BT175 und BT225, zum anderen beim Einsatz von „Ortho“-Testblut zwischen den Glocken BT125 und BT175. Einen im klinischen Einsatz schwieriger zu beeinflussenden Parameter stellt der Hämatokrit des Wundblutes dar. In der vorliegenden Studie konnte ermittelt werden, dass ein Wechsel von Testblut mit 25 % Hämatokrit auf Testblut mit 10 % Hämatokrit im Schnitt zu einer Verminderung der Erythrozytenproduktion um etwa 20 % führte. Diese Verringerung der Erythrozytenproduktion erwies sich fast durchgehend als hochsignifikant – die einzige Ausnahme lag in der 55-ml-Glocke vor, bei der im Standardprogramm lediglich eine signifikante Differenz zu beobachten war. Aufgrund dieser Vielzahl an gewichtigen Parametern erwies sich auch das Ergebnisspektrum als weit gefächert und umfasste Werte von 5,8 bis 29,8 ml/min.

Möchte man die Erythrozytenproduktionsraten verschiedener MAT-Geräte anhand unterschiedlicher Studien miteinander vergleichen, so gilt es in Anbetracht des großen Einflusses der eben erwähnten Parameter darauf zu achten, möglichst nur Ergebnisse einander gegenüberzustellen, welche mit Glocken derselben Volumina und mit Testblut ähnlichen Hämatokrits erzielt wurden. Shulman et al. [95] untersuchten in einer Studie aus dem Jahr 2000 die drei MAT-Geräte Sorin BRAT 2® (250-ml-Glocke), Fresenius C.A.T.S und Medtronic Sequestra® 1000 (225-ml-Glocke). Das Testblut dieser Studie [95] basierte auf frischen Erythrozytenkonzentraten sowie gefrorenem Frischplasma und wurde mittels isotoner Kochsalzlösung auf Hämatokritwerte von näherungsweise 10, 20 und 30 % eingestellt. Neben dem Einfluss der unterschiedlich hohen Hämatokritwerte untersuchten Shulman et al. [95] auch die Auswirkung unterschiedlicher Waschprogramme („Standard flow“, „Medium flow“ und „High flow“) auf die Effizienz der verschiedenen MAT-Geräte sowie die Qualität der erzeugten Erythrozytenkonzentrate. Bei einem Ausgangshämatokrit von 10 % ermittelten Shulman et al. [95] für die Erythrozytenproduktion der 225-ml-Glocke der Medtronic Sequestra® 1000 mit den Einstellungen „Standard flow“, „Medium flow“ und „High flow“ Werte von 11 ml/min, 19 ml/min und 7 ml/min.

Für die Erythrozytenproduktion der 225-ml-Glocke der Sorin Xtra® ergaben sich in der vorliegenden Studie bei einem Ausgangshämatokrit von 10 % in den Programmen Pstd, Popt und Pem Mittelwerte von 19,5 ml/min, 16,9 ml/min und 20,7 ml/min. Somit liegen in den 225-ml-Glocken der Geräte Xtra® und Sequestra® 1000 in den Programmen Pstd bzw. „Medium flow“ vergleichbare Erythrozytenproduktionsraten vor. Sorin BRAT 2®, das zweite diskontinuierlich arbeitende MAT-Gerät aus der Studie von Shulman et al. [95], erreichte bei demselben Ausgangshämatokrit und einer 250-ml-Glocke Erythrozytenproduktionsraten von 19 ml/min, 29 ml/min und 12 ml/min und erzielte damit – bei einer um 11 % größeren Glocke – eine um 40 % höhere maximale Erythrozytenproduktion als die Sorin Xtra®. Das kontinuierlich arbeitende MAT-Gerät Fresenius C.A.T.S erlangte in besagter Studie [95] unter Verwendung von Testblut mit einem Hämatokrit von 10 % Erythrozytenproduktionsraten von 18 ml/min, 23 ml/min und 28 ml/min, womit es teilweise ebenfalls die maximale Erythrozytenproduktionsrate der Xtra® übertraf. Eine weitere Studie, in der bei der Testung verschiedener MAT-Geräte auch die Erythrozytenproduktion berücksichtigt wird, stammt von Serrick et al. [80] aus dem Jahr 2003. Gegenstand dieser Studie bildeten die MAT-Geräte Medtronic autoLog® (135-ml-Glocke), Sorin BRAT 2® (135-ml-Glocke), Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5 (125-ml-Glocke) und Medtronic Sequestra® 1000 (135-ml-Glocke). Die Probennahme zur Evaluierung der Produktqualität und der Wascheffizienz erfolgte dabei aus dem im Rahmen cardiologischer Operationen anfallenden Wundblut [80]. Somit war in dieser Studie [80] eine Standardisierung des Ausgangsblutes nicht möglich – die gemessenen Hämatokritwerte des verwendeten Wundblutes lagen im Schnitt bei 15 % und wiesen eine relative Standardabweichung von etwa 25 % auf. Diesen Versuchsbedingungen am nächsten kamen in der vorliegenden Studie die Testläufe der 125-ml-Glocke der Xtra® mit „Ortho“-Testblut, welches einen Hämatokrit von 10 % aufwies. Für diese Glocke waren in den Programmen Pstd, Popt und Pem Erythrozytenproduktionsraten von 8,7 ml/min, 10,1 ml/min und 18,6 ml/min auszumachen. Da Serrick et al. in ihrer Studie [80] die „vom Hersteller empfohlenen Protokolle“ verwendeten, sollten deren Ergebnisse nicht mit jenen des speziell auf Geschwindigkeit optimierten Notfallprogramms „Pem“ der Sorin Xtra® vergli-

chen werden. Für die 125-ml-Glocke der Medtronic Sequestra® 1000 ermittelten Serrick et al. [80] eine Erythrozytenproduktion von 9,8 ml/min und somit einen Wert, der zwischen den Ergebnissen der Programme Pstd und Popt der 125-ml-Glocke der Xtra® lag. Der Haemonetics Cell Saver® 5 hingegen erzielte nach Serrick et al. [80] bei gleicher Glockengröße eine Erythrozytenproduktionsrate von 22,4 ml/min und übertraf damit das Ergebnis des Programms Popt der Sorin Xtra® um mehr als das Doppelte. Auch die Geräte BRAT 2® und autoLog® erzielten mit ihren etwas größeren 135-ml-Glocken Erythrozytenproduktionsraten, die mit 14,3 bzw. 18,3 ml/min deutlich über jenen Werten lagen, die mit der 125-ml-Glocke der Xtra® zu beobachten waren. Das ebenfalls getestete C.A.T.S erreichte in der Studie von Serrick et al. [80] eine Erythrozytenproduktionsrate von 14,5 ml/min, was recht genau den 14,4 ml/min entspricht, welche die Sorin Xtra® in der vorliegenden Studie im Programm Popt mit der 175-ml-Glocke erzielte. Auffälligerweise lag damit die von Serrick et al. [80] für das C.A.T.S festgestellte Erythrozytenproduktionsrate um mehr als 20 % unter jener, welche Shulman et al. [95] bei ihren Versuchen mit der Einstellung „Standard flow“ und einem Ausgangshämatokrit von lediglich 10 % ermittelt hatten.

5.1.7 Verarbeitungszeit

Obwohl die Verarbeitungszeit – gemessen vom Start des Waschprogramms bis zum Stoppen der Rollerpumpe am Ende der Leer-Phase – den vermutlich am einfachsten und günstigsten zu bestimmenden Parameter darstellt, findet sie nur in recht wenigen Publikationen [80, 89, 99] Beachtung. Dieser Umstand mag mitunter darin begründet liegen, dass die Verarbeitungszeit keinen Hinweis auf die Qualität des erzeugten Erythrozytenkonzentrates gibt und auch nur begrenzte Aussagen über die Effizienz des Waschvorgangs ermöglicht – zur Beurteilung selbiger ist zusätzlich zur Verarbeitungszeit noch die Menge an Erythrozyten zu bestimmen, die in dieser Zeit gewaschen wurden (näheres dazu unter 5.1.6). Dennoch ist die reine Verarbeitungszeit für den Anwender nicht uninter-

ressant, da sie den augenfälligsten Unterschied zwischen den verschiedenen Programmen und Glockengrößen eines MAT-Gerätes ausmacht.

Erwartungsgemäß lagen die in der vorliegenden Studie ermittelten Verarbeitungszeiten der Sorin Xtra® beim Einsatz von Testblut mit 10 % Hämatokrit (Testblut „Ortho“) in jedem Programm hochsignifikant höher als bei der Verwendung von Testblut mit 25 % Hämatokrit (Testblut „Cardio“), da das Gerät in diesen Fällen ein höheres Volumen zu verarbeiten hatte. Die Auswirkung der Glockengröße auf die Verarbeitungszeit zeichnete hingegen kein einheitliches Bild: Im Notfallprogramm stieg die Verarbeitungszeit mit der Glockengröße stets an, im Standardprogramm sank sie hingegen von der 125- bis zur 225-ml-Glocke kontinuierlich ab, während die Verarbeitungszeit der 55-ml-Glocke zwischen den Glocken BT175 und BT225 anzusiedeln war. Eine nochmals abgewandelte Dynamik zeigte die Verarbeitungszeit des Programms Popt: Diese stieg beim Wechsel von der 55- auf die 125-ml-Glocke, fiel dann beim Einsetzen der 175-ml-Glocke wieder ab um bei Verwendung der 225-ml-Glocke wieder anzusteigen. Das auf Geschwindigkeit optimierte Notfallprogramm erfüllte in den Glocken BT55, BT125 und BT175 seinen Zweck, indem es die Verarbeitungszeit gegenüber dem Standardprogramm deutlich verkürzte: beim Einsatz von „Cardio“-Testblut (25 % Hämatokrit) um etwa die Hälfte auf ca. 2 bis 3 Minuten, bei Verwendung von „Ortho“-Testblut (10 % Hämatokrit) um mindestens 45 % auf ca. 3 bis 4 Minuten. In der 225-ml-Glocke führte das Notfallprogramm gegenüber dem Standardprogramm zwar ebenfalls zu einer Zeitersparnis – mit etwa 20 % fiel diese jedoch deutlich niedriger aus als in den Glocken der übrigen Größen.

Wie bereits erwähnt, finden sich nur sehr wenige Publikationen, welche bei der Untersuchung von MAT-Geräten auch auf deren Verarbeitungszeiten eingehen. Von den eingangs aufgeführten drei Studien [80, 89, 99] betrachten zwei [89, 99] zudem nicht den Zeitraum von der Füllung bis zum Leeren einzelner Glocken sondern die Zeit, welche zur Verarbeitung definierter Ausgangsvolumina benötigt wurde. Die dritte der drei genannten Studien [80] – eine Arbeit von Serrick et al. aus dem Jahr 2003 – beinhaltet die Verarbeitungszeiten der MAT-Geräte Medtronic autoLog® (135-ml-Glocke), Sorin BRAT 2® (135-ml-Glocke), Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5 (125-ml-Glocke) und

Medtronic Sequestra® 1000 (125-ml-Glocke). Getestet wurden die genannten Geräte dabei allesamt mit den „von den Herstellern empfohlenen Protokollen“ [80]. Da das Fresenius C.A.T.S als kontinuierlich arbeitendes System keine Zentrifugenglocke verwendet, ist dessen in dieser Studie [80] ermittelte Verarbeitungszeit von 10 Minuten nicht direkt mit den Zeiten der anderen Geräte zu vergleichen. Als Ausgangsblut diente in besagter Studie [80] Wundblut, welches im Rahmen cardiologischer Operationen gewonnen wurde und das bei einer relativen Standardabweichung von circa 25 % einen durchschnittlichen Hämatokrit von etwa 15 % aufwies. Medtronic Sequestra® 1000 und Haemonetics Cell Saver® 5, welche beide mit einer 125-ml-Glocke ausgestattet waren, erreichten in dieser Studie [80] im Schnitt Verarbeitungszeiten von 6:06 bzw. 4:24 min. Die beiden mit einer 135-ml-Glocke versehenen Geräte Sorin BRAT 2® und Medtronic autoLog® wiesen Verarbeitungszeiten von 6:06 bzw. 3:48 min auf [80]. Demgegenüber wurden in der vorliegenden Studie für die 125-ml-Glocke der Sorin Xtra® unter Einsatz von Testblut mit einem Hämatokrit von 10 % in den Programmen Pstd, Popt und Pem Verarbeitungszeiten von 7:58, 7:08 und 3:19 min ermittelt. Demnach benötigt die Xtra® sowohl mit den Standardeinstellungen (Pstd), als auch mit den vom Hersteller „optimierten“ Waschparametern (Popt) deutlich mehr Zeit, um den Inhalt einer 125-ml-Glocke zu verarbeiten, als die von Serrick et al. [80] bei vergleichbarer Glockengröße getesteten Geräte. Da Serrick et al. die Geräte ihrer Studie [80] nicht mit Notfallparametern testeten, erscheint ein direkter Vergleich mit dem Notfallprogramm „Pem“ der Sorin Xtra® nicht angebracht.

5.1.8 Leukozytenausbeute

Leukozyten stellen einen essentiellen Teil der spezifischen und unspezifischen Immunabwehr dar. So kommt den polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) eine wichtige Aufgabe bei der Elimination eingedrungener Mikroorganismen sowie bei der Beseitigung von avitalem Gewebe im Rahmen der Wundheilung zu [196]. Die zu diesem Zwecke von den PMNL eingesetzten, hochwirksamen Hydrolasen wie Elastase, Kollagenase, Kathepsin G und Lysosozym [197] können allerdings auch körpereigenes Gewebe

zerstören: So belegen zahlreiche tierexperimentelle und klinische Studien, dass polymorphkernige neutrophile Leukozyten die alveolo-kapillären Membranen beschädigen und zur Ausbildung eines akuten Lungenversagens (ARDS: acute respiratory distress syndrome) führen können [196]. Es besteht daher der Verdacht, dass Leukozyten im Rahmen der maschinellen Autotransfusion – durch Kontakt mit künstlichen Oberflächen sowie durch die mechanische Belastung während des Waschvorgangs – aktiviert werden könnten, was beim Patienten unter anderem zur Entwicklung eines akuten Lungenversagens führen könnte [90].

Einen Zusammenhang zwischen der Transfusion von maschinell aufbereitetem Blut und ARDS wiesen Bull et al. 1988 [198] in einem Tierexperiment nach. Das in dieser Studie [198] verwendete Testblut wurde mit Glasspritzen abgenommen, mit Heparin und Citrat antikoaguliert, mit isotoner Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 3 verdünnt und mit CaCl versetzt. Zusätzlich wurden die Glocken, an deren Wänden sich eine Matrix aus aktivierten Thrombozyten und Leukozyten gebildet hatte, mit isotoner Kochsalzlösung ausgespült [198]. Die Retransfusion dieses Gemisches führte bei den Versuchshunden zu petechialen Blutungen, hämorrhagischem Lungenödem sowie zur Okklusion von Pulmonalarterienästen [90, 198]. In einer anderen Arbeit berichteten Bull und Bull [199] von Patienten, die nach der Retransfusion von massiv verdünntem, intraoperativ gesammeltem Wundblut ein akutes Lungenversagen, generalisierte Ödeme, Anurie und eine Verbrauchskoagulopathie (DIC = disseminated intravascular coagulation) entwickelten. Als mögliche Ursache für diese Komplikationen führten die Autoren aktivierte Leukozyten an, welche sich bei stark verdünntem Ausgangsblut zusammen mit ebenfalls aktivierten Thrombozyten an der Innenwand der Zentrifugenglocke ansammeln würden [199]: Bei der Verarbeitung von Wundblut mit „normalem“ Hämatokrit bilde sich an der peripheren Innenwand der Zentrifugenglocke rasch eine Schicht aus Erythrozyten, welche einen direkten Kontakt von Leukozyten und Thrombozyten mit der Glockenwand verhindere [199]. Sei der Hämatokrit des Wundblutes jedoch gering, so kämen Thrombozyten und Leukozyten direkt mit der Glockenwand aus Polycarbonat in Berührung, was zu einem

Anheften der Thrombozyten an die Wand führe [199]. Die wandständigen Thrombozyten würden nun ihrerseits eine Anheftung und Aktivierung von Leukozyten bedingen [199].

Während Bull und Bull lediglich von einzelnen Fallbeispielen berichten, untersuchten Tawes und Duvall ein großes Patientenkollektiv systematisch nach diesen schwerwiegenden Komplikationen: In einer 1996 veröffentlichten retrospektiven Studie [200] fanden die Autoren bei über 36.000 im Laufe von 18 Jahren durchgeführten maschinellen Autotransfusionen lediglich in 18 Fällen (entsprechend 0,05 %) ein Auftreten vollständig ausgeprägter Verbrauchskoagulopathien, die zu massiven Blutungen, akutem Lungenversagen und schließlich in allen 18 Fällen auch zum Tode der Patienten führten [200]. Von diesen 18 Patienten wiesen 10 ein rupturiertes Aortenaneurysma auf, 6 hatten ein Polytrauma erlitten und 2 erhielten komplexe cardiale Revisionseingriffe [200]. Die Autoren der Studie [200] sehen die Ursachen der Verbrauchskoagulopathien dabei im komplexen Zusammenspiel von Schock, Hypothermie und wiederholten Bluttransfusionen – und nicht im Einsatz der maschinellen Autotransfusion [200].

Der Frage, ob polymorphkernige neutrophile Leukozyten durch den Waschvorgang der maschinellen Autotransfusion nun eigentlich in relevantem Umfang aktiviert werden, gingen Innerhofer et al. in einer Studie von 2001 [91] nach. Dazu verglichen die Autoren Chemotaxis-Index sowie basalen und stimulierten respiratory burst der PMNL prä- und intraoperativer Proben orthopädischer Patienten mit den Werten des per Fresenius C.A.T.S gewonnenen autologen Erythrozytenkonzentrates [90, 91]. Demnach wiesen die Leukozyten zwar einen geringen Grad an Aktivierung auf – da dabei jedoch nicht die Priming-Schwelle erreicht wurde, werten die Autoren die Retransfusion derartiger Leukozyten als unbedenklich [90, 91]. Auch die klinische Datenlage, die auf eine Verbindung von maschineller Autotransfusion und dem Auftreten von akutem Lungenversagen hinweist, bewerten Innerhofer und Wiedermann als dünn [90].

Da für einen schädlichen Einfluss von Leukozyten, welche sich im autologen gewaschenen Erythrozytenkonzentrat finden, kein gesicherter Beleg vorliegt, werden in den Vorschlägen zum Qualitätsmanagement der maschinellen Autotransfusion [139] auch keine Leukozytenparameter genannt. Dennoch findet sich in einer Vielzahl von MAT-

Studien die Konzentration an Leukozyten [80, 85, 87, 89, 94, 97, 99-101, 143] sowie teilweise auch deren Elimination [80, 89, 94, 96, 97] unter den betrachteten Parametern. Nähere Ausführungen darüber, warum die jeweiligen Leukozytenparameter in den entsprechenden Studien Verwendung fanden, bieten nur etwa die Hälfte der genannten Arbeiten [80, 87, 99, 100, 143]. Vor dem Hintergrund, dass Leukozyten im Produkt der MAT-Geräte mehrheitlich als schädlich wahrgenommen werden, erscheint es verständlich, dass viele Autoren für Leukozyten – wie auch für andere unerwünschte Komponenten des zu reinigenden Wundblutes – in ihren Studien die Auswaschraten bestimmen. Es sollte jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass sich die in den Vorschlägen zum Qualitätsmanagement [139] geforderte Auswascheffektivität ausschließlich auf Komponenten der Plasmafraktion bezieht. Leukozyten hingegen, welche etwas größer als Erythrozyten sind [101], finden sich fast vollständig in den Fraktionen des buffy coat sowie der Erythrozyten und unterliegen damit nicht der erstrebten Plasmaelimination. Vielmehr wird die Erythrozytenfraktion im Qualitätsmanagement [139] unter dem Aspekt der Ausbeute an Erythrozyten betrachtet, was die Entscheidung nahelegt, für die ebenfalls in dieser Fraktion befindlichen Leukozyten gleichfalls die Ausbeute zu bestimmen.

Je nach eingesetztem Testblut ergaben sich in der vorliegenden Studie für die Leukozytenausbeute der Sorin Xtra® Durchschnittswerte von 63,0 und 82,5 %. Das Testblut mit dem niedrigeren Hämatokritwert (10 % im Testblut „Ortho“) führte dabei durchgehend zu einer größeren Leukozytenausbeute als das Testblut mit dem höheren Hämatokritwert (25 % im Testblut „Cardio“). Bei relativen Standardabweichungen von durchschnittlich 22,4 % erwiesen sich diese Differenzen in der Leukozytenausbeute jedoch nur in zwei Fällen als signifikant und lediglich in einem Fall als hochsignifikant. Unterschiede in der Leukozytenausbeute, die beim Einsatz von Glocken verschiedener Größen auftraten, erwiesen sich ebenso als nicht signifikant wie jene, die beim Wechsel vom Standardprogramm in das Programm Pem oder Popt zu verzeichnen waren. Neben der hohen Schwankungsbreite der Ergebnisse fiel zudem auf, dass sich für die 125-ml-Glocke im Programm Pem unter Verwendung von „Ortho“-Testblut bei 4 von 5 Messungen rechnerisch Leukozytenausbeuten von über 100 % ergaben (108,4 %, 123,5 %, 131,3 % und

137,2 %). Bei Verwendung der 225-ml-Glocke war dies – ebenfalls im Programm Pem – bei 2 von 6 Messungen der Fall (122,7 und 103,4 %). Der exakten Fehlerquelle dieser implausiblen Ergebnisse wurde im Rahmen dieser Studie nicht nachgegangen. Ein möglicher Erklärungsansatz bestünde darin, dass sich Leukozyten während der Testläufe mit dem Testblut „Cardio“ an der peripheren Innenwand der jeweiligen Glocke ansammelten, wie dies Bull et al. bereits beschrieben [198, 199]. Diese an der Glockenwand anheftenden Leukozyten könnten sich dann während der anschließenden Testläufe mit „Ortho“-Testblut im Notfallmodus wieder teilweise von der Wand gelöst haben und so zur hohen Leukozytenkonzentration des gewonnenen Produkts beigetragen haben. Als weitere mögliche Fehlerquelle kämen Thrombozytenaggregate in Betracht: Aufgrund ihrer Größe könnten diese Zellaggregate bei der durchflusszytometrischen Leukozytenzählung fälschlicherweise für Leukozyten gehalten worden sein und dadurch wiederum eine falsch hohe Leukozytenkonzentration im gewonnenen Produkt bedingt haben [201-205].

Die meisten Studien, welche auf die Auswaschung von Leukozyten im Rahmen der maschinellen Autotransfusion eingehen, verwenden als Parameter den prozentualen Anteil der – im Vergleich zum Ausgangsblut – „verloren gegangenen“ Leukozyten [80, 89, 94, 96, 97]. Da das Augenmerk in der vorliegenden Studie jedoch auf der Ausbeute an Leukozyten – also dem prozentualen Anteil der im Vergleich zum Ausgangsblut im Produkt „verbliebenen“ Leukozyten – liegt, werden im Folgenden – der besseren Übersichtlichkeit halber – statt der Auswaschraten der oben genannten Studien die korrespondierenden Raten der Leukozytenausbeute genannt. Die Umrechnung erfolgte dabei durch Subtraktion der einzelnen (prozentualen) Eliminationsraten von jeweils 100 %.

Die zum Vergleich der Leukozytenausbeuten verschiedener MAT-Geräte herangezogenen Studien [80, 89, 94, 96, 97, 100] verwendeten – mit Ausnahme der Arbeit von Nitescu et al. [100], deren Testblut einen Hämatokritwert von ca. 38 % aufwies – Ausgangsblut mit Hämatokritwerten zwischen 14 und 20 %. Leukozytenausbeuten, die sich in etwa im gleichen Bereich bewegten wie jene der Sorin Xtra®, erzielten nach diesen Studien die folgenden Geräte: Sorin BRAT 2® mit 61,2 [94] bzw. 70 % [80], Sorin Electa mit 46 % [97] und New Nature ZITI-2000 mit 61,8 % [94]. Für die Geräte Haemonetics Cell

Saver® 5 und Fresenius C.A.T.S kamen verschiedene Studien zu recht unterschiedlichen Ergebnissen. So lag nach einer Studie von Serrick et al. [80] die Leukozytenausbeute des Cell Saver® 5 im Schnitt bei 65 %, während das gleiche Gerät in einer Studie von Geiger et al. [89] lediglich einen Mittelwert von 13,4 % erreichte. Das Fresenius C.A.T.S zeigte gemäß diesen beiden Studien durchschnittliche Leukozytenausbeuten von 55 [80] bzw. 49,2 % [89], wohingegen Nitescu et al. in einer Studie aus dem Jahr 2002 [100] für dieses Gerät lediglich eine Ausbeute von 19,9 % ermittelten. Niedrigere Leukozytenausbeuten als die der Sorin Xtra® fanden sich bei den Geräten Medtronic autoLog® mit 10,5 [89], 14 [96] oder 22 % [80], Dideco Compact-A mit (je nach Glockengröße) 5,6 oder 14,2 % [89], Haemonetics HaemoLite® 3 mit 12,5 % [89], Haemonetics OrthoPAT® mit 8,3 % [89], Medtronic Sequestra® mit 9,7 % [89] und Medtronic Sequestra® 1000 mit 34 % [80]. Auffällig waren neben diesem insgesamt sehr breiten Spektrum an Leukozytenausbeuten auch die hohen Schwankungsbreiten der Ergebnisse der einzelnen Studien. Während Geiger et al. [89, 96] in den genannten Arbeiten auf die Nennung eines Streuungsmaßes der beobachteten Parameter verzichteten und Nitescu et al. [100] lediglich die Spannweite der Leukozytenausbeute anführten (14,5 bis 50,5 % bei einem Median von 19,9 %), ließ sich aus den Angaben der übrigen Studien [80, 94, 97] eine mittlere relative Standardabweichung von 44,6 % erschließen. Somit lag der Variationskoeffizient dieser Studien etwa doppelt so hoch wie jener, der sich in der vorliegenden Studie für die Leukozytenausbeute der Sorin Xtra® ergab. Weitere Studien, die zwar keine Leukozytenausbeuten oder -eliminationsraten betrachteten, dafür aber immerhin die Konzentration der Leukozyten des gewaschenen Erythrozytenkonzentrates anführten, erlangten bei der Bestimmung dieses Parameters ebenfalls nur eine mittlere relative Standardabweichung von 51,0 % [85, 101, 143].

Insgesamt erscheint die Aussagekraft des Parameters „Leukozytenausbeute“ recht dürftig. Zum einen herrschen – wie weiter oben bereits dargestellt – widersprüchliche Ansichten über die potentielle Schädlichkeit retransfundierter Leukozyten, sodass nicht abschließend beurteilt werden kann, ob für die Gesundheit des Patienten eine möglichst niedrige Konzentration an Leukozyten im gewaschenen Erythrozytenkonzentrat prinzi-

piell von Vorteil ist. Zum anderen zeigen die in der Literatur beschriebenen [80, 85, 94, 97, 101, 143] und auch in der vorliegenden Studie ermittelten hohen Standardabweichungen, dass eine genaue Bestimmung der Leukozytenzahl im gewaschenen Erythrozytenkonzentrat offenbar problematisch ist. In zweien der oben genannten Studien [80, 85] kam zu diesem Zwecke ein nicht näher spezifizierter „Coulter counter“ zum Einsatz, in einer anderen [94] der Hämatologieautomat Sysmex SF-3000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan), welcher die Anzahl an Leukozyten optisch mittels Durchflusszytometrie bestimmt [206]. Bei den restlichen Studien [85, 97, 101, 143] verzichteten die Autoren auf eine Angabe des jeweils verwendeten Messverfahrens. Ob die starken Schwankungen der Leukozytenausbeute und -konzentration durch Phänomene bedingt sind, welche im Rahmen des Waschvorganges – insbesondere bei mehrfacher Benutzung derselben Glocke – auftreten, oder ob sie durch Fehler bei der maschinellen Auszählung der Leukozyten verursacht werden, könnte möglicherweise durch die Verwendung spezifischerer Messverfahren – wie beispielsweise der manuellen Auszählung der Leukozyten oder durch den Einsatz von spezifischen Antikörpern – erörtert werden.

5.1.9 Heparinelimination

Das Antikoagulans Heparin wird überwiegend aus Schweinedarmmukosa gewonnen und setzt sich aus einer Mischung hochsulfatierter Glykosaminoglykane zusammen [207]. Seine gerinnungshemmende Wirkung beruht in erster Linie auf einem beschleunigenden Effekt, den es auf den Serinproteaseinhibitor Antithrombin ausübt [207]. Antithrombin wiederum hemmt die Aktivität der Blutgerinnungsfaktoren IIa (Thrombin) und Xa [207]. Heparin stellt ein probates Mittel dar, um im Rahmen einer maschinellen Wundblutaufbereitung die Gerinnung des im Reservoir gesammelten Blutes zu verhindern [149, 150]. Im Verlauf des Waschvorganges sollte das eingesetzte Heparin jedoch möglichst vollständig eliminiert werden, um dem Patienten bei der Retransfusion des erzeugten Erythrozytenkonzentrates keine relevante – und in der exakten Höhe unbekannte – Menge an He-

parin zu verabreichen, da dies mit der Gefahr einer erhöhten postoperativen Blutungsneigung einherginge [208].

Die Sorin Xtra® erreichte im Rahmen der vorliegenden Studie eine mittlere Heparin-elimination von 99,2 %, wobei die relative Standardabweichung der Ergebnisse im Schnitt lediglich 0,3 % betrug. Unter Verwendung von „Ortho“-Testblut (Hämatokrit = 10 %) lagen die Eliminationsraten mit durchschnittlich 99,7 % in zwei Dritteln der Fälle hochsignifikant höher als beim Einsatz von „Cardio“-Testblut (Hämatokrit = 25 %), welcher im Schnitt zu einer Heparinelimination von 98,8 % führte. Auffällig war die relativ niedrige Eliminationsrate der 225-ml-Glocke: Bei Verwendung von „Cardio“-Testblut lag diese mit 96,7 % hochsignifikant unter jenen der anderen Glocken. Sowohl das Programm Popt als auch das Notfallprogramm erzielten beim Einsatz der 225-ml-Glocke bessere Ergebnisse bei der Heparinelimination als das Standardprogramm – bei erstgenanntem fiel der Unterschied sogar hochsignifikant aus. Bedenkt man die Resultate der Elimination des Gesamteiweißes – welche repräsentativ ist für die Plasmaelimination, der auch das Heparin unterliegt – so waren diese abweichenden Ergebnisse der 225-ml-Glocke zu erwarten: Auch bei der Proteinelimination konnten mit der 225-ml-Glocke lediglich unterdurchschnittliche Ergebnisse erzielt werden, wobei insbesondere die Eliminationsrate des Standardprogramms beim Einsatz von „Cardio“-Testblut ins Auge fiel. Bei der Bestimmung der einzelnen Heparinkonzentrationen der Erythrozytenkonzentrate fiel im Übrigen auf, dass diese bei einem Mittelwert von 0,166 IE/ml in ca. einem Drittel der Messungen nur knapp über- oder auch unterhalb der Nachweisgrenze von 0,05 IE/ml lagen, welche für das verwendete Test-Kit (Berichrom® Heparin, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) angegeben war [160].

Nachdem in den 80er und 90er Jahren des vorigen Jahrhunderts mehrere Studien erschienen waren, nach deren Ergebnissen die maschinelle Wundblutaufbereitung eine hohe bis nahezu vollständige Entfernung des im Substrat vorhandenen Heparins erzielte [208-212], nahmen in letzter Zeit nur wenige Arbeiten, die sich mit den Wascheigenschaften von MAT-Geräten beschäftigten, die Heparinkonzentration des Produkts [87] oder die Heparinelimination [80] als Parameter auf. In letztgenannter Studie [80] verglichen

Serrick et al. die Autotransfusionsgeräte Medtronic autoLog®, Sorin BRAT 2®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5 und Medtronic Sequestra® 1000 hinsichtlich der Qualität des erzeugten Erythrozytenkonzentrates. Als Ausgangsblut kam dabei das im Rahmen cardiochirurgischer Operationen anfallende Wundblut zum Einsatz. Mit Ausnahme des Sorin BRAT 2®, welches eine Heparinelimination von 98 % erreichte, erlangten nach dieser Studie [80] alle genannten MAT-Geräte Eliminationsraten von 99 %. Diese Daten decken sich sehr gut mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, obgleich der Variationskoeffizient der Ergebnisse der Arbeit von Serrick et al. [80] mit durchschnittlich 2,4 % etwa 8-mal so hoch lag wie in dieser Studie. Geiger et al. gaben in einer Arbeit aus dem Jahr 1998 [89] für das Produkt der 7 von ihnen getesteten MAT-Geräte Heparinkonzentrationen von 0,1 bis 1,17 IE/ml bei einem Mittelwert von 0,57 IE/ml an. Die besagten 7 Geräte umfassten Medtronic autoLog®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5, Dideco Compact-A (Glocken der Größe 225- und 55-ml), Haemonetics HaemoLite® 3, Haemonetics OrthoPAT® und Medtronic Sequestra®. Der Aussagekraft dieser Ergebnisse sind jedoch Grenzen gesetzt, zumal in besagter Studie [89] nicht aufgeführt wurde, welche Konzentration an Heparin das jeweils verwendete Ausgangsblut aufwies. Eine weitere Studie zu den Waschqualitäten verschiedener MAT-Geräte veröffentlichten Burman et al. 2002 [87]. Da die Autoren für keinen der untersuchten Parameter signifikante Unterschiede zwischen den Geräten Sorin BRAT 2®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5, Dideco Compact-A und Medtronic Sequestra® feststellten, gaben sie keine Auskünfte über die Ergebnisse der einzelnen Apparate. Die Bestimmung der Heparinkonzentration im Erythrozytenkonzentrat ergab in dieser Studie [87] für alle untersuchten Geräte einen Median von 0,3 IE/ml bei einer Spannweite von 0 bis 4,0 IE/ml – im Reservoir lagen bei einem Median von 6,3 IE/ml Konzentrationen zwischen 1,3 und 22,9 IE/ml vor.

Auch wenn es bei der Anwendung der Sorin Xtra® – gemäß den Daten der vorliegenden Studie – nicht zu einer vollständigen Auswaschung des vor der maschinellen Aufbereitung vorliegenden Heparins kommt, so findet doch stets eine ganz erhebliche Reduktion desselben statt. Zumindest beim Einsatz der 125- oder der 175-ml-Glocke kann in den Programmen Pstd und Popt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit von einer mindestens

99-prozentigen Heparinelimination ausgegangen werden. Eine stärkere Verdünnung des Wundblutes – bei gleichbleibend hoher Heparinkonzentration dieses Blutes – führt dabei nochmals zu einer Verbesserung der Heparinelimination. Diese Daten stützen auch die Ergebnisse einer Studie von Serrick et al. [80], in welcher die Autoren bei einigen anderen MAT-Geräten ebenfalls Heparineliminationsraten von etwa 99 % verzeichneten.

Für den klinischen Einsatz ist die Frage, welche Menge an Heparin dem Patienten mit jeder verabreichten Transfusionseinheit zusätzlich zugeführt wird meist interessanter als die prozentuale Eliminationsrate. Das folgende Beispiel soll näher auf diese Fragestellung eingehen: Eine Transfusionseinheit basierend auf einer Vollblutspende von 500 ml beinhaltet bei einem Hämatokrit von 45 % insgesamt 225 ml Erythrozyten. Um ein vergleichbares Volumen an Erythrozyten zu erhalten, bedarf es etwa 3 Füllungen der 125-ml-Glocke der Xtra®. Die so gewonnene „autologe Transfusionseinheit“ enthält nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie ca. 23 IE Heparin. Bedenkt man, dass im Rahmen der Thromboseprophylaxe im Schnitt etwa 500 IE Heparin pro Stunde zur Anwendung kommen [213], so kann man davon ausgehen, dass eine Gabe von 23 zusätzlichen IE Heparin keinen klinisch relevanten Einfluss auf den Gerinnungsstatus des Patienten ausübt.

5.1.10 Albuminelimination

Albumine nehmen im Blutplasma Transportfunktionen wahr und tragen entscheidend zur Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks bei [191]. Da sie einen Anteil von ca. 60 % an der Gesamtmasse der Plasmaproteine ausmachen [191], war davon auszugehen, dass ihre Elimination parallel zu jener des Gesamtproteins verlaufen würde. Die in der vorliegenden Studie erhobenen Daten bestätigten diese Annahme: Zwischen den Ergebnissen der Elimination des Gesamtproteins und der des Albumins ergaben sich in keinem einzigen Falle signifikante Differenzen ($P \geq 0,222$). Die Aussagekraft der beiden Parameter „Albuminelimination“ und „Proteinelimination“ ist daher als nahezu identisch anzusehen – lediglich die Schwankungsbreite der Ergebnisse dieser beiden Parameter unterschied sich minimal zu Ungunsten der Albuminelimination.

5.1.11 Thrombozytenausbeute

Thrombozyten spielen sowohl in der normalen Hämostase als auch bei thrombotischen Störungen eine entscheidende Rolle [214]. Was die maschinelle Autotransfusion anbelangt, herrscht Uneinigkeit darüber, ob generell eine möglichst hohe Thrombozytenauswaschrates anzustreben ist [80, 100], oder eine möglichst niedrige [215]. Einerseits bedingt eine niedrige Auswaschrates eine Retransfusion relativ großer Mengen – möglicherweise aktivierter – Thrombozyten, was zu Koagulopathien führen könnte [100]. Andererseits kann eine hohe Thrombozytenauswaschrates – vor allem beim Einsatz der maschinellen Autotransfusion in Kombination mit extrakorporaler Zirkulation – zum Verlust großer Mengen an Thrombozyten und somit zu einer hämorrhagischen Diathese führen [215]. Eine wichtige Rolle bei der Überlegung, ob Thrombozyten nun geborgen oder verworfen werden sollten, spielt dabei die Frage, in welchem Umfang diese während dem Absaugen des Wundblutes und dessen Aufbereitung aktiviert oder beschädigt wurden [100]. Die Studienlage zu dieser Fragestellung ist bisher allerdings noch recht überschaubar [93]. In einer Arbeit aus dem Jahr 2010 befassten sich Oswald et al. [93] mit Konzentration, Aktivierung und Funktionalität von Thrombozyten in autologem gewaschenem Erythrozytenkonzentrat, welches mittels Fresenius C.A.T.S gewonnen wurde. Da sich in besagtem Erythrozytenkonzentrat nur geringe Mengen an Thrombozyten fanden und diese in ihrer Funktionalität stark eingeschränkt waren, kamen die Autoren zu dem Schluss, dass durch die Retransfusion dieses Konzentrates wohl keine signifikante Beeinträchtigung der Hämostase des Patienten zu erwarten sei [93]. Dennoch finden sich in sehr vielen Studien, die sich mit der Waschqualität von MAT-Geräten auseinandersetzen, die im Produkt vorliegende Thrombozytenkonzentration [67, 80, 85, 89, 94, 97, 100, 101, 143] oder die Thrombozytenelimination [67, 80, 89, 94, 97] unter den betrachteten Parametern. Nähere Ausführungen darüber, welche Aussagekraft die jeweiligen Autoren diesen Parametern zumaßen, fanden sich dabei nur in etwa einem Drittel der genannten Arbeiten [67, 80, 100, 143]. Weitgehender Konsens besteht allerdings darin, nicht die Ausbeute [100], sondern die Elimination an Thrombozyten zu bestimmen [67, 80, 89, 94, 96, 97]. Dieser Um-

stand ist wohl darauf zurückzuführen, dass Thrombozyten im Rahmen der maschinellen Autotransfusion zumeist als schädlich wahrgenommen werden. Dabei sollte allerdings bedacht werden, dass sich die in den Vorschlägen zum Qualitätsmanagement [139] geforderte Auswascheffektivität ausschließlich auf Komponenten der Plasmafraktion bezieht. Thrombozyten finden sich mit einer Dichte von etwa 1,046 bis 1,055 g/ml [216] jedoch zum größten Teil in der Fraktion des buffy coat sowie der Erythrozyten und unterliegen somit nicht der Plasmaelimination. Da ebendiese Erythrozytenfraktion möglichst vollständig geborgen werden sollte, liegt es jedoch nahe, auch für die großteils in dieser Fraktion befindlichen Thrombozyten die Ausbeute zu bestimmen.

Ein großes Problem bei der Interpretation der Thrombozytenparameter stellt die Art der hierbei verwendeten Messmethode dar. In zweien [80, 85] der 11 oben genannten Studien [67, 80, 85, 87, 89, 94, 96, 97, 99-101, 143] kam ein nicht näher spezifizierter „Coulter counter“ zum Einsatz, in einer [94] der Hämatologieautomat Sysmex SF-3000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) und in einer weiteren [99] das Gerät Sysmex K-1000, während den restlichen Studien [80, 85, 89, 96, 97, 100, 101, 143] kein Hinweis auf die verwendete Messmethode zu entnehmen war. Zur Bestimmung der Thrombozytenkonzentration nutzen dabei die beiden genannten Geräte von Sysmex das Widerstandsmessprinzip – alternativ auch als Impedanzmessung bezeichnet – [217, 218], auf welchem auch typischerweise der sogenannte „Coulter counter“ basiert. Da dieses Messprinzip zur Bestimmung der Thrombozytenkonzentration im Routinelabor weitverbreitet ist [219], liegt die Wahrscheinlichkeit recht hoch, dass es auch in vielen der restlichen Studien zum Einsatz kam. Ein Schwachpunkt der Impedanzmessung ist jedoch die Tatsache, dass im Prinzip alle Partikel als Thrombozyten gezählt werden, die in etwa deren Größe aufweisen [219]. Solche Partikel können beispielsweise kleine Erythrozyten oder Immunkomplexe sein [219], aber auch Zellfragmente und zerstörte Zellen [93], wie sie vor allem im Rahmen der maschinellen Autotransfusion aufgrund der Traumatisierung der Blutzellen im Wundgebiet und während des Aufbereitungsprozesses zu erwarten sind. Lorentz et al. untersuchten daher in einer Studie aus dem Jahr 2000 [92] das Ausmaß dieser Störanfälligkeit. Hierbei kam zum einen das auf dem Widerstandsmessprinzip beruhende Gerät

Sysmex K-4500 zum Einsatz, zum anderen – als Referenzmethode – das Durchflusszytometer FACScan® (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, USA) [92]. Die hohe Spezifität der Durchflusszytometrie wurde durch Markierung der Thrombozyten mittels eines spezifischen monoklonalen Antikörpers gegen CD42a gewährleistet [92]. Dabei zeigte sich, dass die mit dem Widerstandsmessprinzip bestimmten Thrombozytenkonzentrationen um das 5- bis 12-fache höher lagen als die durchflusszytometrisch bestimmten Werte [92]. Aufgrund dieser hohen Diskrepanz der Ergebnisse zogen die Autoren die Schlussfolgerung, dass die Impedanzmessung weder zur Bestimmung des Thrombozytengehalts von ungewaschenem Wundblut, noch zu der von gewaschenem Erythrozytenkonzentrat geeignet sei [92].

Die in der vorliegenden Studie für das MAT-Gerät Sorin Xtra® ermittelten Thrombozytenausbeuten bewegten sich mit einem Minimum von 12,5 und einem Maximum von 53,9 % um einen Mittelwert von 27,3 %. Bei einer mittleren relativen Standardabweichung von 44,5 % ergaben sich für die Thrombozytenausbeute kaum signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Waschprogrammen und den verschiedenen Hämatokritwerten des verwendeten Testbluts.

Wie bereits oben erwähnt, wird in den meisten Studien, die im Rahmen der maschinellen Autotransfusion auf die Auswaschung von Thrombozyten eingehen, als Parameter der prozentuale Anteil der – im Vergleich zum Ausgangsblut – eliminierten Thrombozyten verwendet [67, 80, 89, 94, 96, 97]. Da in der vorliegenden Studie – wie auch in der Arbeit von Nitescu et al. [100] – die Thrombozytenausbeute – also der prozentuale Anteil der im Vergleich zum Ausgangsblut im Produkt „verbliebenen“ Thrombozyten – als Parameter dient, werden im Folgenden – der besseren Übersichtlichkeit halber – statt der Auswaschraten der oben genannten Studien die korrespondierenden Raten der Thrombozytenausbeute genannt. Die Umrechnung erfolgte dabei durch Subtraktion der einzelnen (prozentualen) Eliminationsraten von jeweils 100 %.

Die genannten Studien [67, 80, 89, 94, 96, 97, 100] befassten sich insgesamt mit 11 verschiedenen MAT-Geräten: Medtronic autoLog®, Sorin BRAT 2®, Fresenius C.A.T.S, Haemonetics Cell Saver® 5, Dideco Compact-A, Sorin Electa, Haemonetics HaemoLite® 3,

Haemonetics OrthoPAT®, Medtronic Sequestra®, Medtronic Sequestra® 1000 und New Nature ZITI-2000. Die Thrombozytenausbeuten dieser Geräte lagen gemäß der oben genannten Studien im Schnitt bei 11,1 %, wobei die niedrigste Ausbeute mit lediglich 1 % für das Gerät Medtronic autoLog® [80], die höchste mit 32 % für das Gerät Sorin BRAT 2® [80] verzeichnet wurde. Damit lagen die Thrombozytenausbeuten dieser Studien [67, 80, 89, 94, 96, 97, 100] deutlich unter den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Zudem fiel auf, dass die gleichen Geräte in verschiedenen Studien oft sehr unterschiedliche Ergebnisse der Thrombozytenausbeute zu verzeichnen hatten: So erzielte das BRAT 2® einmal 14,1 [94] und einmal 32 % [80], das autoLog® Werte von 1 % [80], 5 % [96] und 11,4 % [89], das C.A.T.S Ausbeuten von 3,7 % [100], 7 % [80] und 24,8 % [89] sowie der Cell Saver® 5 Ergebnisse von 8,1 [89] und 14 % [80].

Wie die oben bereits genannte Studie von Lorentz et al. [92] nahelegt, messen die in der Routinediagnostik eingesetzten Blutbildautomaten wohl eher Zelltrümmer statt Thrombozyten. Gestützt wird diese These auch durch die offenbar schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse verschiedener MAT-Geräte. Eine Bestimmung der Thrombozytenausbeute, -elimination oder -konzentration im Rahmen eines Qualitätsmanagements ist daher – zumindest mittels Impedanzmessung – nicht zu empfehlen.

5.2 Maschinelle Aufbereitung von Thrombozyten

5.2.1 Begriffsklärung „Thrombozytenkonzentrate“

Wie Dohan Ehrenfest et al. in einem Leserbrief an das Journal of Biomedical Materials Research im Jahr 2010 [220] umfassend darstellten, ist die Namensgebung und der Inhalt verschiedener Arten von Thrombozytenkonzentraten ein kontrovers diskutiertes Thema. So sollte gemäß diesen Autoren der Oberbegriff „platelet-rich plasma (PRP)“ je nach Höhe der Konzentration an zusätzlich in diesem Präparat vorhandenen Leukozyten unterteilt werden in leukozytenarmes „pure PRP (P-PRP)“ oder leukozytenreiches „L-PRP“ [220]. Nach dem Vorschlag der genannten Autoren sollten diese Präparate nach ihrer Aktivierung – welche beispielsweise mittels Thrombin erfolgen kann – als „P-PRP gel“ bzw. „L-PRP gel“ bezeichnet werden [220]. Marx definierte im Jahr 2001 [144] „platelet-rich plasma“ ebenfalls lediglich als autologes Plasma, dessen Thrombozytenkonzentration über dem Normalwert von 150.000 bis 350.000 Thrombozyten pro Mikroliter liegt, merkte aber zugleich an, dass eine positive Wirkung auf die Heilung von Knochen- und Weichteilgewebe bis dahin nur für „PRP“ mit einer Konzentration von 1.000.000 Thrombozyten pro Mikroliter nachgewiesen wurde. Des Weiteren führte Marx an, dass es zur Erstellung von „echtem PRP“ nötig sei, das Ausgangsblut nacheinander mit zwei unterschiedlichen Intensitäten zu zentrifugieren [144]. „Plättchenreiches Plasma“, welches als Basis von Analyseverfahren wie der Aggregometrie nach Born dienen soll, wird demgegenüber laut Weißbach [221] durch einfache Zentrifugation bei niedriger Tourenzahl erzeugt. Breddin empfiehlt zur Gewinnung eines solchen „PRP“ eine einfache Zentrifugation der frischen Blutproben für 4 min bei 500 g_n, wodurch wohl Konzentrationen von 150.000 bis 450.000 Thrombozyten pro Mikroliter zu erwarten sind [222].

Somit findet der Begriff „PRP“ für eine Reihe recht unterschiedlicher Präparate Verwendung – doch auch der Begriff „platelet-poor plasma (PPP)“ [222] birgt Verwechslungsgefahr. So sollte beispielsweise ein Zwecks Verdünnung von „plättchenreichem Plasma“ verwendetes und extra per Zentrifugation gewonnenes „plättchenarmes Plasma“

nach Weißbach höchstens eine Konzentration von 10.000 Thrombozyten pro Mikroliter enthalten [221]. In der Bedienungsanleitung der Sorin Electa findet der Begriff „PPP“ hingegen Verwendung, um den Teil des während der Apherese abgeschiedenen Plasmas zu beschreiben, welcher nicht den buffy coat enthält [149]. Für dieses „PPP“ konnte im Rahmen der vorliegenden Studie eine durchschnittliche Konzentration von 71.250 Thrombozyten pro Mikroliter bestimmt werden, was natürlich nicht der oben genannten Definition von Weißbach entspricht.

Um mögliche Fehlinterpretationen dieser mehrdeutigen Begriffe zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Studie weitestgehend auf die Benutzung der Ausdrücke „PPP“ und „PRP“ verzichtet. Stattdessen fanden die neutraleren Bezeichnungen „buffy coat plasma“ (BCP) und „pure plasma“ (PP) Verwendung. Dabei entspricht das BCP jener im Rahmen der Apherese abgeschiedenen Plasmafraktion, welche den buffy coat enthält, während das PP im Umkehrschluss keine Anteile des buffy coat aufweisen sollte.

5.2.2 Thrombozytenkonzentration

Sowohl Sorin Electa als auch Sorin Xtra® vermochten es in der vorliegenden Studie mittels der Aphereseprogramme ein BCP zu erzeugen, das gemäß Marx [144] aufgrund seiner Thrombozytenkonzentration von über 1.000 /nl als „PRP“ bezeichnet werden konnte und somit prinzipiell als Mittel zur Unterstützung der Wundheilung geeignet wäre. Während die beiden Geräte dabei keine signifikanten Unterschiede in der Thrombozytenausbeute aufwiesen, zeigte sich, dass die 225-ml-Glocke in beiden Geräten meist zu einer signifikant besseren Ausbeute führte, sodass dieser Glocke bei einer niedrigen Thrombozytenkonzentration im Ausgangsblut der Vorzug gegeben werden sollte.

5.2.3 Qualitätsparameter der Thrombozyten

5.2.3.1 Allgemeines

Unabhängig davon, ob das gewonnene BCP als „PRP“ zur Verbesserung der Wundheilung oder als „autologes Plättchenkonzentrat“ zur Reinfusion nach cardiopulmonalem Bypass zum Einsatz kommen soll, ist es erstrebenswert, dass die darin enthaltenen Thrombozyten intakt und möglichst wenig aktiviert sind. Da die Intention der Verwendung von „autologem Thrombozytenkonzentrat“ darin besteht, die durch präoperative Apherese isolierten Thrombozyten nicht der Belastung durch den cardiopulmonalen Bypass – bestehend unter anderem aus Scherstress, der unphysiologischen Oxygenierung und dem Kontakt mit künstlichen Membranen – auszusetzen, und so deren Aktivierung zu verhindern [111], ist es leicht nachvollziehbar, dass eine derartige Aktivierung auch nicht während der Apherese auftreten sollte.

Bei „PRP“, das zum Zwecke der Wundheilung eingesetzt werden soll, ist eine Aktivierung zwar prinzipiell erwünscht und wird daher meist auch durch Zugabe von Thrombin oder ähnlichen Plättchenaktivatoren ausgelöst – dies sollte nach Marx [144] allerdings erst unmittelbar vor der Anwendung des „PRP“ erfolgen, da Thrombozyten nach ihrer Aktivierung innerhalb von 10 Minuten ca. 70 % der in ihnen gespeicherten – und für die Wundheilung bedeutenden – Wachstumsfaktoren ausschütten [144]. Zur Beurteilung der Qualität verschiedener Aphereseverfahren ist es daher essentiell, die Verfassung der dabei gewonnenen Thrombozyten zu bewerten. Aufgrund der funktionellen Komplexität der Thrombozyten existiert dabei eine Vielzahl an Testverfahren, welche die Thrombozyten unter verschiedenen Gesichtspunkten betrachten [223]. Mehrere Autoren beklagen dabei die mangelnde Korrelation zwischen den Ergebnissen der Tests *in vitro* und der Funktion sowie der Überlebensfähigkeit der Thrombozyten *in vivo* [224-227].

5.2.3.2 pH-Wert

Um das Jahr 1970 stellten Murphy et al. [228] bei phasenmikroskopischen Untersuchungen von Thrombozytenkonzentraten fest, dass es unterhalb eines pH-Wertes von 6,0 zu dramatischen morphologischen Veränderungen der Thrombozyten kam, welche mit einem abrupten Verlust ihrer Lebensfähigkeit in vivo einhergingen [228, 229]. Ebenso eindrucksvolle morphologische Veränderungen traten bei pH-Werten über 7,2 auf – und auch in diesem Falle erwies sich die Lebensfähigkeit der Thrombozyten in vivo als beeinträchtigt [229].

Als günstig für die Lagerung von Thrombozytenkonzentraten sahen besagte Autoren hingegen einen pH-Wert zwischen 6,8 und 7,2 an [229]. Die empfohlenen Grenzen des pH-Wertes für die Qualitätskontrolle von Thrombozytenkonzentraten legten Murphy et al. im Jahr 1994 [230] mit 6,2 bis 7,6 jedoch deutlich großzügiger aus. Auf eine Bestimmung des pH-Wertes – welche sich ohnehin recht unkompliziert gestaltet – sollte bei der Beurteilung von Thrombozytenkonzentraten und ähnlichen Präparaten folglich nicht verzichtet werden.

Der mittlere pH-Wert des BCP der im Rahmen der vorliegenden Studie untersuchten MAT-Geräte „Electa“ und „Xtra“ lag mit 7,26 bzw. 7,14 knapp über bzw. unter der von Murphy et al. [229] als besonders günstig definierten Obergrenze von 7,20. Im BCP beider Geräte kam es während einer sechsstündigen Lagerung zu einer signifikanten Abnahme des pH-Wertes, sodass sich nach diesem Zeitraum auch der pH-Wert des von der Electa erzeugten BCP in dem von Murphy et al. [229] empfohlenen Bereich wiederfand.

5.2.3.3 Reaktion der Thrombozyten auf hypotonen Stress

Einen weiteren Parameter, der gemäß unterschiedlichen Studien [230-232] in angemessener Korrelation zur Lebensfähigkeit von Thrombozyten in vivo steht, stellt die hypotonic shock response (HSR) dar. Sie ist ein Indikator für die Fähigkeit der Thrombozyten, nach einer durch die Zugabe von hypotoner Lösung bedingten Anschwellung wieder ihre ursprüngliche Größe zu erlangen [165]. Die Beobachtung dieser Volumenschwankungen

erfolgt durch eine photometrische Registrierung der parallel auftretenden Transmissionsänderungen: Beim Anschwellen sinkt der Brechungsindex der Thrombozyten und die Lichttransmission erhöht sich, beim Abschnellen steigt der Brechungsindex und die Lichttransmission sinkt wieder [165].

In der vorliegenden Studie ergaben sich weder für das Gerät „Electa“, noch für das Gerät „Xtra“ signifikante Unterschiede zwischen den HSR-Regenerationsraten der Thrombozyten des Testbluts und des BCP. Für das BCP der Xtra® ergab sich eine durchschnittliche HSR-Regenerationsrate von 50,3 %, für das BCP der Electa eine von 62,5 %. Diese Diskrepanz erwies sich als hochsignifikant – ebenso hochsignifikant war jedoch auch der Unterschied zwischen den HSR-Regenerationsraten des Testbluts der beiden Geräte, welche Mittelwerte von 56,2 bzw. 67,6 % aufwiesen.

Shanwell et al. publizierten im Jahr 2006 eine Studie [233], in der die Autoren für Thrombozytenkonzentrat, welches mittels des Zellseparators „Trima“ (Softwareversion 4.02, CaridianBCT, Inc., Lakewood, CO, USA) erzeugt wurde, eine HSR von 57,1 % angaben. Dies entspräche dem Niveau, auf dem sich auch die HSR-Regenerationsraten der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten MAT-Geräte befanden. Eine Studie von Rock et al. [234] erbrachte für die Trima® (Softwareversion 4.0) mit durchschnittlich 69 % etwas höhere Ergebnisse – allerdings bei einer prozentualen Standardabweichung von 30,4 %. Wie Shanwell et al. [233] bestätigen, bestehen zwischen den Thrombozyten verschiedener Spender oft erhebliche Unterschiede in deren Überlebensfähigkeit. Das Ausgangsblut dieser Spender – gewonnen vor der Durchführung der Apherese – findet bezüglich einer Bestimmung der HSR jedoch in der Mehrzahl der Studien, die diesen Parameter zur Quantifizierung der Lebensfähigkeit der Thrombozyten heranziehen, keine Verwendung [231, 233-236]. Die nach den Daten der vorliegenden Studie auftretenden, hochsignifikanten Unterschiede zwischen den HSR-Regenerationsraten verschiedener Ansätze an Spenderblut lassen es jedoch angeraten erscheinen, auch die HSR des Ausgangsblutes zwecks besserer Vergleichbarkeit derartiger Studien zu berücksichtigen.

5.2.3.4 Morphologie der Thrombozyten

Neben der Erfassung der hypotonic shock response zählt nach Murphy et al. [230] auch die Beurteilung der Morphologie der Thrombozyten mittels Phasenkontrastmikroskopie zu jenen Messmethoden in vitro, deren Ergebnisse gut mit der Lebensfähigkeit der Thrombozyten in vivo korrelieren. Laut Murphy und Gardner [229] kann generell davon ausgegangen werden, dass die Lebensfähigkeit der Thrombozyten gut erhalten bleibt, wenn diese eine normale, diskoidale Form beibehalten. Mit einem Verlust der Lebensfähigkeit assoziierten die genannten Autoren [229] hingegen in erster Linie einen Übergang von der diskoidalen Form hin zu einer sphärischen Form, sowie eine generalisierte Degranulation der Thrombozyten – Veränderungen also, die das morphologische Korrelat einer Aktivierung der Thrombozyten darstellen [162]. Dass zur Durchführung der phasenkontrastmikroskopischen Bestimmung der Thrombozytenmorphologie eine dafür hinreichend qualifizierte Person nötig ist, kann ebenso als Nachteil der Methode gewertet werden wie die recht hohe Subjektivität der Ergebnisse.

Für die beiden in der vorliegenden Studie untersuchten MAT-Geräte „Electa“ und „Xtra“[®] ergaben sich hinsichtlich der Morphologie der per Apherese gewonnenen Thrombozyten keine signifikanten Unterschiede. Ein von Murphy et al. [229] für die Lebensfähigkeit der Thrombozyten als äußerst ungünstig beschriebenes Überwiegen der sphärischen Form ließ sich dabei für keines der beiden Geräte ermitteln.

5.2.4 Aktivierung der Thrombozyten – β -Thromboglobulin

Zur Quantifizierung des Grads der Aktivierung von Thrombozyten bietet sich β -Thromboglobulin als recht verlässlicher Parameter an [237-239]. Als plättchenspezifisches Protein liegt β -Thromboglobulin physiologischerweise in den α -Granula der Thrombozyten vor [170]. Bei einer Aktivierung der Thrombozyten wird es zusammen mit den anderen Inhaltsstoffen der α -Granula nach extrazellulär sezerniert [170], wo es mit Hilfe eines enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) quantifiziert werden kann [181]. Untersuchungen von Matzdorff et al. [240] zeigten, dass der Nachweis von β -Thromboglobulin

eine sensitivere Methode zur Bestimmung der Thrombozytenaktivierung darstellt als die Aggregometrie. Taylor [241] sowie Murphy et al. [230] wiesen allerdings darauf hin, dass die Ergebnisse der β -Thromboglobulinbestimmung in Thrombozytenkonzentraten nicht mit der Lebensfähigkeit dieser Thrombozyten in vivo korrelieren.

In der vorliegenden Studie wies das BCP der Geräte „Electa“ und „Xtra“ durchschnittliche β -Thromboglobulinkonzentrationen von 2.561 bzw. 2.220 IE/ml auf. Verglichen mit dem zugrunde liegenden Testblut stellte dies zwar eine Erhöhung auf das etwa 18- bzw. 17-fache des Ausgangswertes dar, bedenkt man jedoch, dass bei maximaler Aktivierung der Thrombozyten – welche beispielsweise mittels Zugabe von Thrombin erfolgen kann – durchaus β -Thromboglobulinkonzentrationen von über 24.000 IE/ml erreicht werden können [242], so lassen die für die beiden genannten Geräte ermittelten Konzentrationen eher auf eine geringfügige Aktivierung der Thrombozyten rückschließen.

Auf einem ähnlichen Niveau ist gemäß den Daten einer Studie von McLeod et al. [243] auch das Ausmaß der Aktivierung von Thrombozyten anzusiedeln, welche durch Einsatz des Zellseparators „COBE® Spectra“ (CaridianBCT, Inc., Lakewood, CO, USA) gewonnen wurden.

5.2.5 Aktivierung der Thrombozyten – lösliches P-Selektin

Im Gegensatz zu β -Thromboglobulin, welches sich in den α -Granula der Thrombozyten findet, ist das Transmembranprotein P-Selektin (auch: GMP140 = granule membrane protein 140, CD62P = cluster of differentiation 62 P, PADGEM = platelet activation dependent granule external membrane protein oder SELP = Selektin P) in der Membran ebendieser α -Granula [170, 181] lokalisiert. Kawabata et al. [244] konnten nachweisen, dass lösliches P-Selektin (sP-Selektin) – eine Variante des P-Selektins, welcher offenbar die zur Verankerung nötige Transmembrandomäne fehlt [176-179] – von aktivierten Thrombozyten sezerniert wird. Ein Vorteil der Konzentrationsbestimmung von löslichem P-Selektin gegenüber jener von β -Thromboglobulin besteht darin, dass erstere im Gegensatz zu letzterer kaum durch den Einsatz verschiedener Antikoagulantien oder unter-

schiedliche Methoden der Plasmapräparation beeinträchtigt wird [181]. Darüber hinaus scheinen die beiden Substanzen Indikatoren unterschiedlicher physiologischer Aspekte der Thrombozytenaktivierung zu sein [181].

Das von der Sorin Xtra® im Rahmen der vorliegenden Studie erzeugte BCP wies eine durchschnittliche sP-Selektinkonzentration von 49,1 ng/ml auf, womit diese signifikant niedriger lag als jene der Electa, welche einen Wert von 61,8 ng/ml erreichte.

Tynngård et al. [231] bestimmten in Thrombozytenkonzentraten, welche mittels der Zellseparatoren „COBE® Spectra Version 7.0 LRS Turbo“ (CaridianBCT, Inc., Lakewood, CO, USA) oder „Trima Accel® Version 5.0 LRS“ (ebenfalls CaridianBCT) erzeugt und dann für einen Tag bei 22 °C auf einem Thrombozytenagitator gelagert wurden, sP-Selektinkonzentrationen von 55 bzw. 53 ng/ml. Die sP-Selektinkonzentrationen dieser für einen Tag gelagerten Thrombozytenkonzentrate lagen damit niedriger als jene der für sechs Stunden gelagerten BCP-Proben der Geräte „Electa“ und „Xtra“, welche 74,8 bzw. 60,4 ng/ml betrugen.

5.2.6 Funktionalität der Thrombozyten – Aggregometrie

Zur Beurteilung der Funktionalität von Thrombozyten findet gemeinhin die Aggregometrie nach Born Verwendung [222, 245, 246], welche vielen Forschern als der Goldstandard gilt [223, 245]. Das ursprünglich von Born beschriebene Verfahren [168] basiert auf der durch die Zugabe von Adenosindiphosphat (ADP) hervorgerufenen Aggregation von Thrombozyten. Besagte Aggregation äußert sich in der Ausbildung von Plättchenagglomeraten, welche verglichen mit einzelnen Blutplättchen unter anderem eine geringere Lichtstreuung verursachen [169]. Dies wiederum führt zu einer Zunahme der Lichttransmission, welche von einem speziellen Plättchenaggregometer erfasst und als Aggregationskurve ausgegeben wird [168, 169].

Abweichend von dieser 1962 beschriebenen Methode [168] fand in der vorliegenden Studie statt ADP das Antibiotikum Ristocetin Verwendung. Ristocetin induziert eine Bindung des Willebrand-Faktors an den GPIb/IX-Komplex und dadurch eine Agglutina-

tion der Thrombozyten, welche zwar begrifflich von der oben genannten Aggregation abzugrenzen ist, letztlich jedoch ebenfalls zur Ausbildung von Thrombozytenagglomeraten führt [168]. Im Gegensatz zur Aggregation durch andere Induktoren ist die durch Ristocetin vermittelte Agglutination allerdings nicht an das Vorliegen vitaler Thrombozyten gebunden [221].

Als größter Nachteil der Aggregometrie ist neben der anspruchsvollen technischen Durchführung vor allem der Umstand zu nennen, dass diese kaum standardisiert ist und eine vergleichende Gegenüberstellung der Ergebnisse verschiedener Labore daher nur sehr vage Aussagen zulässt [222, 245].

In der vorliegenden Studie wies das BCP der MAT-Geräte „Electa“ und „Xtra®“ gegenüber dem Ausgangsblut signifikant bis hochsignifikant niedrigere Aggregationsraten auf, die im Schnitt bei 87,3 bzw. 85,6 % lagen. Zwischen den beiden Geräten waren keine signifikanten Unterschiede der Aggregationsraten auszumachen und auch die nach sechsständiger Lagerung in beiden Geräten zu beobachtenden Abnahmen besagter Raten erwiesen sich als nicht signifikant. Die niedrigen Variationskoeffizienten von 3,4 bzw. 2,5 % ließen dabei auf geringfügig ausgeprägte Schwankungen der Thrombozytenfunktionalität während der einzelnen Testläufe schließen.

6 Zusammenfassung

Hintergrund

Maschinelle Aufbereitung und Retransfusion von intra- oder postoperativ gesammeltem Wundblut stellt eine etablierte Möglichkeit dar, den Bedarf an allogenen Blutprodukten zu senken [44, 45, 77, 78]. Da durch sorgfältige Auswahl von Blutspendern und den Einsatz moderner labordiagnostischer Verfahren das Auftreten transfusionsassoziiierter Infektionen mit Hepatitis C oder HIV in den Industrieländern inzwischen äußerst selten geworden ist [7], gelten in diesen Ländern heutzutage Anwendungsfehler wie das Verabreichen blutgruppeninkompatibler Präparate als Hauptursache schwerwiegender transfusionsassoziiierter Komplikationen [20]. Neben der Möglichkeit, diese Risiken zu vermeiden, sprechen auch Versorgungsengpässe mit allogenen Blutprodukten sowie deren hohe Kosten für den Einsatz fremdblutsparender Verfahren [106]. Obgleich die Transfusion von autogenen Blutprodukten als relativ komplikationsarm angesehen werden kann, erscheint eine qualitative Überprüfung deren Herstellungsprozesses sinnvoll und notwendig. Insbesondere bei neu entwickelten Geräten, Programmen und Einmalmaterialien bedarf es einer umfassenden, experimentellen Bewertung der Produktqualität und des Aufbereitungsprozesses.

Die Xtra®, ein von der Sorin Group Italia S.r.l. (Mirandola, Italien) als Nachfolgemodell der „Electa“ und des „BRAT 2®“ entwickeltes Gerät zur maschinellen Autotransfusion (MAT), stellt den Gegenstand der vorliegenden Studie dar. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf der Beurteilung der Qualität des gewaschenen, autologen Erythrozytenkonzentrates. Zusätzlich erfolgte eine umfangreiche Beurteilung der Qualität des ebenfalls mittels besagten Gerätes gewonnenen Thrombozytenkonzentrates – in diesem Falle im direkten Vergleich zu dem Vorgängermodell „Electa“.

Methodik

Als Grundlage für die zwei verschiedenen Versuchsanordnungen dienten jeweils frische Vollblutspenden. Für die Untersuchung des Thrombozytenkonzentrates erfolgte die Blutentnahme jeweils am Morgen des Versuchstages, während die Blutspenden, die der Gewinnung von gewaschenem Erythrozytenkonzentrat dienten, eine maximale Lagerungsdauer von drei Tagen aufwiesen. Das „Testblut“ wurde durch blutgruppengleiche Vermengung mehrerer Blutspenden sowie die Zugabe von isotoner Kochsalzlösung zwecks Standardisierung des Hämatokrits erzeugt.

Bei den Versuchen zur Bestimmung der Qualität des Erythrozytenkonzentrates erfolgte eine zusätzliche Beimischung von lysierten Erythrozyten, um dem Charakter von operativ gesammeltem Wundblut besser zu entsprechen. In die Auswertung flossen dabei neben dem Hämatokrit und der zur Erzeugung des Erythrozytenkonzentrates benötigten Zeit auch die vom MAT-Gerät erzielten Auswaschraten von Gesamteiweiß, Albumin, freiem Hämoglobin, Heparin und Kalium sowie die Ausbeute an Erythrozyten und das pro Minute gewonnene Volumen an Erythrozyten ein. Die Durchführung des Waschvorganges erfolgte dabei fünf- bis siebenmal mit jedem der drei voreingestellten Waschprogramme, mit allen vier angebotenen Glockengrößen und je zwei verschiedenen Arten Testblut (die eine mit 10, die andere mit 25 % Hämatokrit).

Für die Versuche zur Bestimmung der Qualität des Thrombozytenkonzentrates wurde das Testblut auf einen Hämatokrit von 35 % eingestellt. Der Apheresevorgang zur Gewinnung des Thrombozytenkonzentrates erfolgte sowohl bei der Xtra® als auch bei der Electa für jede der vier verfügbaren Glockengrößen insgesamt fünf Mal. Die Weiterverarbeitung der entnommenen Proben fand direkt nach Abschluss des Apheresevorgangs sowie nach einer sechsstündigen Lagerung bei Raumtemperatur statt. Eine Bestimmung der Konzentration an Gesamteiweiß sowie von Gesamtzahl, Ausbeute und Anreicherung der Thrombozyten erfolgte lediglich einmal, wohingegen die Ermittlung der Konzentration an freiem Hämoglobin und löslichem P-Selektin, des pH-Wertes, des mittleren Thrombozytenvolumens (mean platelet volume = MPV), der Reaktion auf hypotonen Stress (hypotonic shock response = HSR) und der Aktivität von β -Thromboglobulin so-

wie die Beurteilung der Morphologie der Thrombozyten mittels Lichtmikroskopie und die Bewertung deren Funktionalität mittels Aggregometrie jeweils nach sechsstündiger Lagerung der Proben wiederholt wurden.

Ergebnisse

Die für maschinelle Wiederaufbereitung von Wund- oder Drainageblut empfohlenen Sollwerte für die Parameter „Ausbeute“ und „Elimination“ [139] konnte die Xtra® stets erfüllen, wobei das Standardprogramm „Pstd“ und das auf Zeit und Hämatokrit optimierte Programm Popt für alle verfügbaren Glockengrößen Erythrozytenausbeuten von über 91 % und Proteineliminationsraten von mindestens 97 % erzielten. Bezüglich der Heparinelimination erwies sich die 125-ml-Glocke als besonders effektiv: Je Transfusionseinheit war hier lediglich mit 23 IE Heparin zu rechnen. Ein – ebenfalls als Sollwert empfohlener – Hämatokrit von über 50 % [139] war nur mit dem Programm Popt in allen Glocken zuverlässig zu erreichen. Das Notfallprogramm „Pem“ erbrachte in den Glocken der Größe 55-, 125- und 175-ml gegenüber den beiden anderen Programmen eine erhebliche Zeitersparnis, ging allerdings meist auch mit einer signifikant niedrigeren Proteinelimination und einem hochsignifikant niedrigeren Produkthämatokrit einher.

Verglichen mit der Proteinelimination erwiesen sich die Eliminationsraten von Kalium und freiem Hämoglobin als weniger präzise Parameter. Noch weitaus unpräziser und teilweise auch implausibel waren die mittels Durchflusszytometrie bestimmten Ergebnisse der Leukozytenausbeute.

Im Vergleich zu den anderen Glockengrößen zeigte die 225-ml-Glocke einige Auffälligkeiten: So lag die Proteinelimination dieser Glocke in allen Programmen hochsignifikant niedriger als in den Glocken der Größe 125- und 175-ml – ähnliches galt auch für die Elimination an freiem Hämoglobin, Kalium und Heparin. Dabei fiel die Proteinelimination des Standardprogramms niedriger aus als jene des Notfallprogramms, während bei den übrigen Glocken das Gegenteil der Fall war. Zudem erreichte das Standardprogramm dieser Glocke lediglich einen mittleren Hämatokrit von unter 50 %, während das Programm Popt den höchsten Hämatokritwert aller vier Glockengrößen erzielte.

Das im Rahmen der Versuche zur Thrombozytenapherese mittels der Geräte „Electa“ und „Xtra“ gewonnene thrombozytenreiche Plasma (buffy coat plasma = BCP) wies durchschnittliche Konzentrationen von 1.481 bzw. 1.109 Thrombozyten/nl auf, wobei die Konzentration tendenziell mit steigender Glockengröße zunahm. Da sich die beiden Geräte hinsichtlich der prozentualen Ausbeute an Thrombozyten nicht signifikant voneinander unterschieden, waren diese hochsignifikanten Differenzen in der Thrombozytenkonzentration des BCP offenbar auf die bereits vorbestehenden Konzentrationsunterschiede in den verwendeten Testblutansätzen zurückzuführen.

Der pH des erzeugten BCP lag sowohl für die Electa als auch für die Xtra® mit Werten von 7,26 bzw. 7,14 in dem für Thrombozytenkonzentrate empfohlenen Bereich [230]. Eine signifikante Änderung der hypotonic shock response der Thrombozyten war – ausgehend von den Ergebnissen des Testbluts (TB) – in keinem der beiden Geräte zu verzeichnen. Die Konzentration an β -Thromboglobulin lag im BCP der Electa bei durchschnittlich 2.200 IE/ml und in jenem der Xtra® bei gemittelten 2.561 IE/ml – das entspricht in etwa 10 % der bei maximaler Aktivierung der Thrombozyten zu erwartenden Konzentration [242]. Eine mittels Ristocetin durchgeführte Aggregometrie erbrachte für die Thrombozyten des BCP Aggregationsraten, die bei Verwendung der Electa um etwa 6 %, beim Einsatz der Xtra® um etwa 10 % niedriger lagen als jene, die für die Thrombozyten des entsprechenden Testbluts ermittelt wurden. Zwischen den Ergebnissen der beiden Geräte traten dabei – wie auch bei der vorgenannten β -Thromboglobulinkonzentration – keine signifikanten Differenzen auf.

Schlussfolgerungen

Zur Aufbereitung von Wundblut mit der Sorin Xtra® empfiehlt sich die Verwendung des Programms Popt: Mit diesem Programm befand sich sowohl die Erythrozytenausbeute als auch die Proteinelimination durchgehend auf einem hohen bis sehr hohen Niveau. Darüber hinaus lag der Hämatokrit des gewonnenen Erythrozytenkonzentrates beim Einsatz des Programms Popt stets am höchsten – erreichte im Gegensatz zu anderen Autotransfusionsgeräten [80, 85, 87, 89, 100, 101] allerdings kein einziges Mal Werte von über 60 %.

Des Weiteren spricht auch die Zeitersparnis gegenüber dem Standardprogramm für die Wahl des Programms Popt.

Die Ergebnisse des Parameters „Leukozytenausbeute“ warfen einige Fragen auf, denen im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter nachgegangen wurde: Zu deren Abklärung könnten Studien beitragen, in denen zur Bestimmung der Leukozytenkonzentrationen spezifischere Messverfahren – wie beispielsweise die manuelle Auszählung der Leukozyten oder die Immunphänotypisierung – zum Einsatz kämen.

Sowohl Electa als auch Xtra® vermochten es, ein BCP mit einer relativ hohen Konzentration an Thrombozyten zu erzeugen. Wird eine möglichst hohe Konzentration oder Ausbeute an Thrombozyten angestrebt, so ist für beide Geräte die Verwendung der 225-ml-Glocke anzuraten.

Insgesamt erbrachte die Thrombozytenapherese in beiden Geräten vergleichbare Ergebnisse: Thrombozytenausbeute, -anreicherung und -morphologie zeigten ebenso wie die Aggregometrie und die Konzentration an β -Thromboglobulin keine signifikanten Differenzen, während die Messungen des pH-Wertes und der Konzentration an sP-Selektin zugunsten der Xtra® ausfielen.

Da die Parameter „mittleres Thrombozytenvolumen“, „hypotonic shock response“ und „Aggregometrie“ bereits in den verschiedenen Testblutansätzen hochsignifikant unterschiedliche Ergebnisse erbrachten, empfiehlt es sich, bei Studien zur Qualität von Thrombozytenkonzentraten grundsätzlich alle Thrombozytären Parameter auch vor der Durchführung der Apherese zu dokumentieren.

Literaturverzeichnis

1. LANDSTEINER K. Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 1901;14(46):1132-4.
2. GIANGRANDE PL. The history of blood transfusion. *British Journal of Haematology*. 2000;110(4):758-67.
3. LANDSTEINER K. On agglutination of normal human blood. *Transfusion*. 1961;1(1):5-8.
4. ROUS P, TURNER JR. The preservation of living red blood cells in vitro. I. Methods of preservation. *The Journal of Experimental Medicine*. 1916;23(2):219-37.
5. ROUS P, TURNER JR. The preservation of living red blood cells in vitro. II. The transfusion of kept cells. *The Journal of Experimental Medicine*. 1916;23(2):239-48.
6. WIEBECKE D, FISCHER K, KEIL G, LEIBLING R, REISSIGL H, STANGEL W. Zur Geschichte der Transfusionsmedizin in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts (unter besonderer Berücksichtigung ihrer Entwicklung in Deutschland). *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2004;31(Suppl. 2):12-31.
7. BERNEK S, BISCOPING J. Risiken und Alternativen der Transfusion. *Anästhesiologie & Intensivmedizin*. 2006;47(3):143-55.
8. AMMANN AJ, COWAN MJ, WARDA DW, WEINTRUB P, DRITZ S, GOLDMAN H, PERKINS HA. Acquired immunodeficiency in an infant: possible transmission by means of blood products. *Lancet*. 1983;1(8331):956-8.

9. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Possible transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome (AIDS) – California. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 1982;31(48):652-4.
10. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Prevention of acquired immune deficiency syndrome (AIDS): report of inter-agency recommendations. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 1983;32(8):101-3.
11. BUSCH MP, YOUNG MJ, SAMSON SM, MOSLEY JW, WARD JW, PERKINS HA. Risk of human immunodeficiency virus (HIV) transmission by blood transfusions before the implementation of HIV-1 antibody screening. The Transfusion Safety Study Group. *Transfusion*. 1991;31(1):4-11.
12. AUBUCHON JP, BIRKMEYER JD, BUSCH MP. Safety of the blood supply in the United States: opportunities and controversies. *Annals of Internal Medicine*. 1997;127(10):904-9.
13. SELIK RM, WARD JW, BUEHLER JW. Trends in transfusion-associated acquired immune deficiency syndrome in the United States, 1982 through 1991. *Transfusion*. 1993;33(11):890-3.
14. GOODNOUGH LT, BRECHER ME, KANTER MH, AUBUCHON JP. Transfusion medicine. Second of two parts – blood conservation. *The New England Journal of Medicine*. 1999;340(7):525-33.
15. SURGENOR DM, WALLACE EL, HAO SH, CHAPMAN RH. Collection and transfusion of blood in the United States, 1982-1988. *The New England Journal of Medicine*. 1990;322(23):1646-51.
16. SULLIVAN MT, COTTEN R, READ EJ, WALLACE EL. Blood collection and transfusion in the United States in 2001. *Transfusion*. 2007;47(3):385-94.

17. WALLACE EL, CHURCHILL WH, SURGENOR DM, CHO GS, MCGURK S. Collection and transfusion of blood and blood components in the United States, 1994. *Transfusion*. 1998;38(7):625-36.
18. BISCOPING J, BEIN G. Kritische Indikationsstellung beim Einsatz von Blutprodukten im klinischen Alltag. *Deutsches Ärzteblatt*. 2003;100(14):A929-A32.
19. KARGER R, KRETSCHMER V, WULF H. Risiken der Transfusion von Blutkomponenten: Aktuelle Anhaltzahlen für eine "quantitative" Risikoaufklärung. *Anästhesiologie & Intensivmedizin*. 2004;45(7):430-4.
20. LOVE EM, JONES H, WILLIAMSON LM, COHEN H, TODD A, SOLDAN K, REVILL J, NORFOLK DR, BARBARA J, ATTERBURY CL, ASHER D. Serious Hazards of Transfusion: Annual Report 1999 – 2000. Manchester: SHOT Office, Manchester Blood Centre, 2001.
21. SPÖHR F, BÖTTIGER BW. Fremdblut sparende Maßnahmen. *Der Anaesthesist*. 2002;51(3):221-33; quiz 34-5.
22. Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten: Herausgegeben von der Bundesärztekammer auf Empfehlung ihres Wissenschaftlichen Beirats. 4 ed. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag; 2008.
23. HOLNESS L, KNIPPEN MA, SIMMONS L, LACHENBRUCH PA. Fatalities caused by TRALI. *Transfusion Medicine Reviews*. 2004;18(3):184-8.
24. Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Herausgegeben von: Vorstand und Wissenschaftlichem Beirat der Bundesärztekammer. 3 ed. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag; 2003.
25. SURGENOR DM. The patient's blood is the safest blood. *The New England Journal of Medicine*. 1987;316(9):542-4.

26. MARTIN K, KELLER E, GERTLER R, TASSANI P, WIESNER G. Efficiency and safety of preoperative autologous blood donation in cardiac surgery: a matched-pair analysis in 432 patients. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2010;37(6):1396-401.
27. NIELSEN HJ. Detrimental effects of perioperative blood transfusion. *British Journal of Surgery*. 1995;82(5):582-7.
28. POPOVSKY MA, WHITAKER B, ARNOLD NL. Severe outcomes of allogeneic and autologous blood donation: frequency and characterization. *Transfusion*. 1995;35(9):734-7.
29. SOWADE O, WARNKE H, SCIGALLA P, SOWADE B, FRANKE W, MESSINGER D, GROSS J. Avoidance of allogeneic blood transfusions by treatment with epoetin beta (recombinant human erythropoietin) in patients undergoing open-heart surgery. *Blood*. 1997;89(2):411-8.
30. PRICE TH, GOODNOUGH LT, VOGLER WR, SACHER RA, HELLMAN RM, JOHNSTON MF, BOLGIANO DC, ABELS RI. The effect of recombinant human erythropoietin on the efficacy of autologous blood donation in patients with low hematocrits: a multicenter, randomized, double-blind, controlled trial. *Transfusion*. 1996;36(1):29-36.
31. CORWIN HL, GETTINGER A, RODRIGUEZ RM, PEARL RG, GUBLER KD, ENNY C, COLTON T, CORWIN MJ. Efficacy of recombinant human erythropoietin in the critically ill patient: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Critical Care Medicine*. 1999;27(11):2346-50.
32. SINGH AK, SZCZECHE L, TANG KL, BARNHART H, SAPP S, WOLFSON M, REDDAN D. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *The New England Journal of Medicine*. 2006;355(20):2085-98.
33. BOHLIUS J, SCHMIDLIN K, BRILLANT C, SCHWARZER G, TRELLE S, SEIDENFELD J, ZWAHLEN M, CLARKE MJ, WEINGART O, KLUGE S, PIPER M, NAPOLI M, RADES D,

STEENSMA D, DJULBEGOVIC B, FEY MF, RAY-COQUARD I, MOEBUS V, THOMAS G, UNTCH M, SCHUMACHER M, EGGER M, ENGERT A. Erythropoietin or Darbepoetin for patients with cancer – meta-analysis based on individual patient data. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2009(3):CD007303.

34. AAPRO M, JELKMANN W, CONSTANTINESCU SN, LEYLAND-JONES B. Effects of erythropoietin receptors and erythropoiesis-stimulating agents on disease progression in cancer. *British Journal of Cancer*. 2012;106(7):1249-58.

35. LEPOR H, LIPKIN M, SLOVA D. The preoperative use of erythropoietin stimulating proteins prior to radical prostatectomy is not associated with increased cardiovascular or thromboembolic morbidity or mortality. *Urology*. 2010;75(6):1424-8.

36. DJAVAN B, LAZE J, ECKERSBERGER E, FINKELSTEIN J, AGALLIU I, LEPOR H. The short-term use of erythropoietin-stimulating agents: impact on the biochemical recurrence of prostate cancer. *BJU International*. 2011;108(10):1582-7.

37. CASADEVALL N, NATAF J, VIRON B, KOLTA A, KILADJIAN JJ, MARTIN-DUPONT P, MICHAUD P, PAPO T, UGO V, TEYSSANDIER I, VARET B, MAYEUX P. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *The New England Journal of Medicine*. 2002;346(7):469-75.

38. KÜHBACHER-LUZ G, INNERHOFER P. Autologe Transfusion bei Kindern – Fremdblutsparende Verfahren. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*. 2004;39(11):687-91.

39. SOCIETY OF THORACIC SURGEONS BLOOD CONSERVATION GUIDELINE TASK FORCE, FERRARIS VA, FERRARIS SP, SAHA SP, HESSEL EA, 2ND, HAAN CK, ROYSTON BD, BRIDGES CR, HIGGINS RS, DESPOTIS G, BROWN JR, SOCIETY OF CARDIOVASCULAR ANESTHESIOLOGISTS SPECIAL TASK FORCE ON BLOOD TRANSFUSION, SPIESS BD, SHORE-LESSERSON L, STAFFORD-SMITH M, MAZER CD, BENNETT-GUERRERO E, HILL SE, BODY S. Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: the Society of

Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists clinical practice guideline. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2007;83(5 Suppl):S27-86.

40. BRYSON GL, LAUPACIS A, WELLS GA. Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. The International Study of Perioperative Transfusion. *Anesthesia & Analgesia*. 1998;86(1):9-15.
41. BOCK M, MÜLLER J, BACH A, BÖHRER H, MARTIN E, MOTSCH J. Effects of preinduction and intraoperative warming during major laparotomy. *British Journal of Anaesthesia*. 1998;80(2):159-63.
42. KURZ A, SESSLER DI, LENHARDT R. Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical-wound infection and shorten hospitalization. Study of Wound Infection and Temperature Group. *The New England Journal of Medicine*. 1996;334(19):1209-15.
43. BIEDLER A, WILHELM W. Erythrozytenqualität nach maschineller Autotransfusion und Wundblutdrainage. *Der Anaesthesist*. 2001;50 Suppl 1:S24-9.
44. HUET C, SALMI LR, FERGUSON D, KOOPMAN-VAN GEMERT AW, RUBENS F, LAUPACIS A. A meta-analysis of the effectiveness of cell salvage to minimize perioperative allogeneic blood transfusion in cardiac and orthopedic surgery. International Study of Perioperative Transfusion (ISPOT) Investigators. *Anesthesia & Analgesia*. 1999;89(4):861-9.
45. CARLESS P, MOXEY A, O'CONNELL D, HENRY D. Autologous transfusion techniques: a systematic review of their efficacy. *Transfusion Medicine*. 2004;14(2):123-44.
46. CROSS MH. Autotransfusion in cardiac surgery. *Perfusion*. 2001;16(5):391-400.
47. ROSENCHER N, KERKKAMP HE, MACHERAS G, MUNUERA LM, MENICHELLA G, BARTON DM, CREMERS S, ABRAHAM IL. Orthopedic Surgery Transfusion Hemoglobin

European Overview (OSTHEO) study: blood management in elective knee and hip arthroplasty in Europe. *Transfusion*. 2003;43(4):459-69.

48. MUNOZ M, CAMPOS A, MUNOZ E, CARRERO A, CUENCA J, GARCIA-ERCE JA. Red cell salvage in orthopedic surgery. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine*. 2006;8(1):41-51.

49. DUCHOW J, AMES M, HESS T, SEYFERT U. Activation of plasma coagulation by retransfusion of unwashed drainage blood after hip joint arthroplasty: a prospective study. *The Journal of Arthroplasty*. 2001;16(7):844-9.

50. KRISTIANSSON M, SOOP M, SARASTE L, SUNDQVIST KG, SUONTAKA AM, BLOMBÄCK M. Cytokine and coagulation characteristics of retrieved blood after arthroplasty. *Intensive Care Medicine*. 1995;21(12):989-95.

51. ARNESTAD JP, BENGTSSON A, BENGTSON JP, JOHANSSON S, REDL H, SCHLAG G. Release of cytokines, polymorphonuclear elastase and terminal C5b-9 complement complex by infusion of wound drainage blood. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1995;66(4):334-8.

52. BENGTSON JP, BACKMAN L, STENQVIST O, HEIDEMAN M, BENGTSSON A. Complement activation and reinfusion of wound drainage blood. *Anesthesiology*. 1990;73(3):376-80.

53. BLEVINS FT, SHAW B, VALERI CR, KASSER J, HALL J. Reinfusion of shed blood after orthopaedic procedures in children and adolescents. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1993;75(3):363-71.

54. ARNOLD JP, HAEGER M, BENGTSON JP, BENGTSSON A, LISANDER B. Release of inflammatory mediators in association with collection of wound drainage blood during orthopaedic surgery. *Anaesthesia and Intensive Care*. 1995;23(6):683-6.

55. SCHMIDT H, BENDTZEN K, MORTENSEN PE. The inflammatory cytokine response after autotransfusion of shed mediastinal blood. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1998;42(5):558-64.
56. HANSEN E, PAWLIK M. Reasons against the retransfusion of unwashed wound blood. *Transfusion*. 2004;44(12 Suppl):45S-53S.
57. HANSEN E, GOMBOTZ H. Intraoperative and Postoperative Cell Salvage. In: MANIATIS A, LINDEN P, VAN DER, HARDY JF, editors. *Alternatives to Blood Transfusion in Transfusion Medicine*. 2 ed. Chichester, West Sussex: John Wiley; 2011. p. 458-74.
58. HAAN J, DE, SCHÖNBERGER J, HAAN J, OEVEREN W, VAN, EIJGELAAR A. Tissue-type plasminogen activator and fibrin monomers synergistically cause platelet dysfunction during retransfusion of shed blood after cardiopulmonary bypass. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1993;106(6):1017-23.
59. VERTREES RA, CONTI VR, LICK SD, ZWISCHENBERGER JB, MCDANIEL LB, SHULMAN G. Adverse effects of postoperative infusion of shed mediastinal blood. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1996;62(3):717-23.
60. KLODELL CT, RICHARDSON JD, BERGAMINI TM, SPAIN DA. Does cell-saver blood administration and free hemoglobin load cause renal dysfunction? *The American Surgeon*. 2001;67(1):44-7.
61. CLEMENTS DH, SCULCO TP, BURKE SW, MAYER K, LEVINE DB. Salvage and reinfusion of postoperative sanguineous wound drainage. A preliminary report. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1992;74(5):646-51.
62. KITANO T, HATTORI S, MIYAKAWA H, YOSHITAKE S, IWASAKA H, NOGUCHI T. Unwashed shed blood infusion causes deterioration in right ventricular function after coronary artery surgery. *Anaesthesia and Intensive Care*. 2000;28(6):642-5.

63. WODA R, TETZLAFF JE. Upper airway oedema following autologous blood transfusion from a wound drainage system. *Canadian Journal of Anesthesia*. 1992;39(3):290-2.
64. MILNE AA, DRUMMOND GB, PATERSON DA, MURPHY WG, RUCKLEY CV. Disseminated intravascular coagulation after aortic aneurysm repair, intraoperative salvage autotransfusion, and aprotinin. *Lancet*. 1994;344(8920):470-1.
65. DALEN T, BROSTRÖM LA, ENGSTRÖM KG. Cell quality of salvaged blood after total knee arthroplasty. Drain blood compared to venous blood in 32 patients. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1995;66(4):329-33.
66. FARIS PM, RITTER MA, KEATING EM, VALERI CR. Unwashed filtered shed blood collected after knee and hip arthroplasties. A source of autologous red blood cells. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1991;73(8):1169-78.
67. ROSOLSKI T, MAUERMANN K, FRICK U, HERGERT M. Direkte Autotransfusionssysteme liefern Blut unzureichender Qualität. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*. 2000;35(1):21-4.
68. SOUTHERN EP, HUO MH, MEHTA JR, KEGGI KJ. Unwashed wound drainage blood. What are we giving our patients? *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 1995(320):235-46.
69. WIXSON RL, KWAAN HC, SPIES SM, ZIMMER AM. Reinfusion of postoperative wound drainage in total joint arthroplasty. Red blood cell survival and coagulopathy risk. *The Journal of Arthroplasty*. 1994;9(4):351-8.
70. DUCHATEAU J, NEVELSTEEN A, SUY R, DEMEYERE R, VANDECRAEN J, GOOSSENS M, BOGAERTS M, ARNOUT J, VERMYLEN J. Autotransfusion during aorto-iliac surgery. *European Journal of Vascular Surgery*. 1990;4(4):349-54.

71. BARTELS C, CLAEYS L, KTENIDIS K, NIGBUR H, HORSCH S. Intraoperative whole blood autotransfusion during venous thrombectomy. *The Journal of Cardiovascular Surgery*. 1994;35(2):109-14.
72. OURIEL K, SHORTELL CK, GREEN RM, DEWEESE JA. Intraoperative autotransfusion in aortic surgery. *Journal of Vascular Surgery*. 1993;18(1):16-22.
73. MAUERHAN DR, NUSSMAN D, MOKRIS JG, BEAVER WB. Effect of postoperative reinfusion systems on hemoglobin levels in primary total hip and total knee arthroplasties. A prospective randomized study. *The Journal of Arthroplasty*. 1993;8(5):523-7.
74. GRIMALDI NA, SICURANZA M, ECK JC. Perioperative autotransfusion systems in TKA are not necessary. *Orthopedics*. 2006;29(11):1027-9.
75. ADALBERTH G, BYSTRÖM S, KOLSTAD K, MALLMIN H, MILBRINK J. Postoperative drainage of knee arthroplasty is not necessary: a randomized study of 90 patients. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1998;69(5):475-8.
76. MARKS RM, VACCARO AR, BALDERSTON RA, HOZACK WJ, BOOTH RE, JR., ROTHMAN RH. Postoperative blood salvage in total knee arthroplasty using the Solcotrans autotransfusion system. *The Journal of Arthroplasty*. 1995;10(4):433-7.
77. CARLESS PA, HENRY DA, MOXEY AJ, O'CONNELL DL, BROWN T, FERGUSON DA. Cell salvage for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2006(4):CD001888.
78. CARLESS PA, HENRY DA, MOXEY AJ, O'CONNELL D, BROWN T, FERGUSON DA. Cell salvage for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2010(4):CD001888.
79. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie): Aufgestellt gemäß Transfusionsgesetz von der

Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut. Gesamtnovelle 2005, mit Richtlinienanpassung 2010. Köln: Deutscher Ärzteverlag; 2010.

80. SERRICK CJ, SCHOLZ M, MELO A, SINGH O, NOEL D. Quality of red blood cells using autotransfusion devices: a comparative analysis. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*. 2003;35(1):28-34.
81. REEDER GD. Autotransfusion theory of operation: a review of the physics and hematology. *Transfusion*. 2004;44(12 Suppl):35S-9S.
82. WATERS JH, POTTER P, HOBSON DF. A comparison of red cell recovery between two different methods of red cell washing. *Anesthesia & Analgesia*. 2003;97(6):1578-81.
83. HANSEN E, BECHMANN V, ALTMEPPEN J, LAST M, ROTH G. Quality Management in Blood Salvage: Implementation of Quality Assurance and Variables Affecting Product Quality. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2004;31(4):221-7.
84. DAI B, WANG L, DJAIANI G, MAZER CD. Continuous and discontinuous cell-washing autotransfusion systems. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. 2004;18(2):210-7.
85. SCHLEINZER W, SINGBARTL G. Intraoperative Autotransfusion mit einem neuen kontinuierlichen Autotransfusionssystem (Fresenius C.A.T.S). In: MEMPEL W, MEMPEL M, SCHWARZFISCHER G, ENDRES W, editors. *Eigenbluttransfusion aus heutiger Sicht*. München: Sympomed; 1996. p. 6-9.
86. BARTELS C, BECHTEL JV, WINKLER C, HORSCH S. Intraoperative autotransfusion in aortic surgery: comparison of whole blood autotransfusion versus cell separation. *Journal of Vascular Surgery*. 1996;24(1):102-8.
87. BURMAN JF, WESTLAKE AS, DAVIDSON SJ, RUTHERFORD LC, RAYNER AS, WRIGHT AM, MORGAN CJ, PEPPER JR. Study of five cell salvage machines in coronary artery surgery. *Transfusion Medicine*. 2002;12(3):173-9.

88. AMAND T, PINCEMAIL J, BLAFFART F, LARBUISSON R, LIMET R, DEFRAIGNE JO. Levels of inflammatory markers in the blood processed by autotransfusion devices during cardiac surgery associated with cardiopulmonary bypass circuit. *Perfusion*. 2002;17(2):117-23.
89. GEIGER P, PLATOW K, BARTL A, VÖLK C, JUNKER K, MEHRKENS HH. New developments in autologous transfusion systems. *Anaesthesia*. 1998;53 Suppl 2:32-5.
90. INNERHOFER P, WIEDERMANN FJ. Leukozytenaktivierung durch maschinelle Autotransfusion. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*. 2002;37(12):738-40.
91. INNERHOFER P, WIEDERMANN FJ, TIEFENTHALER W, SCHOBERSBERGER W, KLINGLER A, VELIK-SALCHNER C, OSWALD E, SALNER E, IRSCHICK E, KÜHBACHER G. Are leukocytes in salvaged washed autologous blood harmful for the recipient? The results of a pilot study. *Anesthesia & Analgesia*. 2001;93(3):566-72.
92. LORENTZ A, WAIBEL H, BECKER P, BENDER J, NEBE TC. Routine Automated Laboratory Methods Are Inadequate to Determine the Number of Platelets in Blood Salvaged and Processed for Autotransfusion. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2000;27(1):33-6.
93. OSWALD E, STREIF W, HERMANN M, HENGSTER P, MITTERMAYR M, INNERHOFER P. Intraoperatively salvaged red blood cells contain nearly no functionally active platelets, but exhibit formation of microparticles: results of a pilot study in orthopedic patients. *Transfusion*. 2010;50(2):400-6.
94. LIANG H, ZHAO Y, WANG D, WANG B. Evaluation of the quality of processed blood salvaged during craniotomy. *Surgical Neurology*. 2009;71(1):74-80.
95. SHULMAN G. Quality of processed blood for autotransfusion. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*. 2000;32(1):11-9.

96. GEIGER P, BARTL A, VÖLK C, MEHRKENS HH, KUNZ C. Klinischer Einsatz der neuen Waschzentrifuge AutoLog(R) von PerHop. In: MEMPEL W, MEMPEL M, ENDRES W, editors. *Aktuelles zur Eigenbluttransfusion*. München: Sympomed; 1997. p. 221-3.
97. MELO A, SERRICK CJ, SCHOLZ M, SINGH O, NOEL D. Quality of red blood cells using the Dideco Electa autotransfusion device. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*. 2005;37(1):58-9.
98. HANSEN E, BECHMANN V, ALTMEPPEN J, KUTZ N. Test results of the new autotransfusion device "Electa". *Transfusion Clinique et Biologique*. 2001;8 Suppl 1:P238.
99. WESTPHAL-VARGHESE B, ERREN M, WESTPHAL M, AKEN H, VAN, ERTMER C, LANGE M, BOOKE M. Processing of stored packed red blood cells using autotransfusion devices decreases potassium and microaggregates: a prospective, randomized, single-blinded in vitro study. *Transfusion Medicine*. 2007;17(2):89-95.
100. NITESCU N, BENGTSSON A, BENGTSON JP. Blood salvage with a continuous autotransfusion system compared with a haemofiltration system. *Perfusion*. 2002;17(5):357-62.
101. VERMEIJDEN WJ, HAGENAARS A, OEVEREN W, VAN, VRIES AJ, DE. Do repeated runs of a cell saver device increase the pro-inflammatory properties of washed blood? *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2008;34(2):350-3.
102. MCSHANE AJ, POWER C, JACKSON JF, MURPHY DF, MACDONALD A, MORIARTY DC, OTRIDGE BW. Autotransfusion: quality of blood prepared with a red cell processing device. *British Journal of Anaesthesia*. 1987;59(8):1035-9.
103. JACOBI K, WALTHER A, KÜHN R, DWORAK O, NEIDHARDT B, RÜGHEIMER E. Möglichkeiten und Grenzen der intraoperativen maschinellen Autotransfusion (MAT) bei radikalen Prostatektomien. *Der Anaesthesist*. 1997;46(2):101-7.

104. KENT P, ASHLEY S, THORLEY PJ, SHAW A, PARKIN A, KESTER RC. 24-hour survival of autotransfused red cells in elective aortic surgery: a comparison of two intraoperative autotransfusion systems. *British Journal of Surgery*. 1991;78(12):1473-5.
105. HANSEN E, SEYFRIED T. Maschinelle Autotransfusion. *Der Anaesthetist*. 2011;60(4):381-9; quiz 90.
106. DAVIES L, BROWN TJ, HAYNES S, PAYNE K, ELLIOTT RA, MCCOLLUM C. Cost-effectiveness of cell salvage and alternative methods of minimising perioperative allogeneic blood transfusion: a systematic review and economic model. *Health Technology Assessment*. 2006;10(44):iii-iv, ix-x, 1-210.
107. HARKER LA, MALPASS TW, BRANSON HE, HESSEL EA, 2ND, SLICHTER SJ. Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha-granule release. *Blood*. 1980;56(5):824-34.
108. METZELAAR MJ, KORTEWEG J, SIXMA JJ, NIEUWENHUIS HK. Comparison of platelet membrane markers for the detection of platelet activation in vitro and during platelet storage and cardiopulmonary bypass surgery. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1993;121(4):579-87.
109. WILDEVUUR CR, EIJSMAN L, ROOZENDAAL KJ, HARDER MP, CHANG M, OEVEREN W, van. Platelet preservation during cardiopulmonary bypass with aprotinin. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 1989;3(6):533-7; discussion 7-8.
110. KESTIN AS, VALERI CR, KHURI SF, LOSCALZO J, ELLIS PA, MACGREGOR H, BIRJINIUK V, OUIMET H, PASCHE B, NELSON MJ, ET AL. The platelet function defect of cardiopulmonary bypass. *Blood*. 1993;82(1):107-17.

111. CROWTHER M, FORD I, JEFFREY RR, URBANIAK SJ, GREAVES M. Quality of harvested autologous platelets compared with stored donor platelets for use after cardiopulmonary bypass procedures. *British Journal of Haematology*. 2000;111(1):175-81.
112. BOLDT J, BORMANN B, VON, KLING D, JACOBI M, MOOSDORF R, HEMPELMANN G. Preoperative plasmapheresis in patients undergoing cardiac surgery procedures. *Anesthesiology*. 1990;72(2):282-8.
113. DELROSSI AJ, CERNAIANU AC, VERTREES RA, WACKER CJ, FULLER SJ, CILLEY JH, JR., BALDINO WA. Platelet-rich plasma reduces postoperative blood loss after cardiopulmonary bypass. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1990;100(2):281-6.
114. CHRISTENSON JT, REUSE J, BADEL P, NOWICKI B, SIMONET F, SCHMUZIGER M. Autologous platelet sequestration in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 1996;10(12):1083-9.
115. STOVER EP, SIEGEL LC, HOOD PA, O'RIORDAN GE, MCKENNA TR. Platelet-rich plasma sequestration, with therapeutic platelet yields, reduces allogeneic transfusion in complex cardiac surgery. *Anesthesia & Analgesia*. 2000;90(3):509-16.
116. YAMAMOTO K, HAYASHI J, MIYAMURA H, EGUCHI S. A comparative study of the effect of autologous platelet-rich plasma and fresh autologous whole blood on haemostasis after cardiac surgery. *Cardiovascular Surgery*. 1996;4(1):9-14.
117. TOMAR AS, TEMPE DK, BANERJEE A, HEGDE R, COOPER A, KHANNA SK. Preoperative autologous plateletpheresis in patients undergoing open heart surgery. *Annals of Cardiac Anaesthesia*. 2003;6(2):136-42.
118. DAVIES GG, WELLS DG, MABEE TM, SADLER R, MELLING NJ. Platelet-leukocyte plasmapheresis attenuates the deleterious effects of cardiopulmonary bypass. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1992;53(2):274-7.

119. GIORDANO GF, SR., GIORDANO GF, JR., RIVERS SL, CHUNG GK, MAMMANA RB, MARCO JD, RACZKOWSKI AR, SABBAGH A, SANDERSON RG, STRUG BS. Determinants of homologous blood usage utilizing autologous platelet-rich plasma in cardiac operations. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1989;47(6):897-902.
120. REICH DL, KOORN R, VITALE S, DEPERIO M, SILVAY G. Platelet-Rich Plasmapheresis During Cardiac Reoperations. *Anesthesiology*. 1991;75(3):A987.
121. WONG CA, FRANKLIN ML, WADE LD. Coagulation tests, blood loss, and transfusion requirements in platelet-rich plasmapheresed versus nonpheresed cardiac surgery patients. *Anesthesia & Analgesia*. 1994;78(1):29-36.
122. BUCHWALD D, REBER D, KALTSCHMIDT C, LACZKOVICS A, WIEBALCK A. Validierung eines Verfahrens zur Herstellung von autologem Thrombozyten-Gel. *Kardiotechnik*. 2008;17(3):67-70.
123. EVERTS PA, DEVILEE RJ, BROWN MAHONEY C, EEFTINCK-SCHATTENKERK M, BOX HA, KNAPE JT, ZUNDERT A, VAN. Platelet gel and fibrin sealant reduce allogeneic blood transfusions in total knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2006;50(5):593-9.
124. EVERTS PA. Autologous Platelet-Leukocyte Enriched Gel. Basics and Efficacy. A novel method to support soft tissue and bone healing. Kerkrade: D&L Graphics; 2007.
125. MAN D, PLOSKER H, WINLAND-BROWN JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2001;107(1):229-37; discussion 38-9.
126. PIERCE GF, TARPLEY JE, YANAGIHARA D, MUSTOE TA, FOX GM, THOMASON A. Platelet-derived growth factor (BB homodimer), transforming growth factor-beta 1, and basic fibroblast growth factor in dermal wound healing. Neovessel and matrix formation and cessation of repair. *The American Journal of Pathology*. 1992;140(6):1375-88.

127. MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM, SCHIMMELE SR, STRAUSS JE, GEORGEFF KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998;85(6):638-46.
128. CANALIS E, MCCARTHY TL, CENTRELLA M. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *Journal of Cellular Physiology*. 1989;140(3):530-7.
129. CROVETTI G, MARTINELLI G, ISSI M, BARONE M, GUIZZARDI M, CAMPANATI B, MORONI M, CARABELLI A. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfusion and Apheresis Science*. 2004;30(2):145-51.
130. KNIGHTON DR, CIRESI K, FIEGEL VD, SCHUMERTH S, BUTLER E, CERRA F. Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet-derived wound healing formula. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*. 1990;170(1):56-60.
131. GANIO C, TENEWITZ FE, WILSON RC, MOYLES BG. The treatment of chronic nonhealing wounds using autologous platelet-derived growth factors. *The Journal of Foot & Ankle Surgery*. 1993;32(3):263-8.
132. WALSH WR, LOEFLE A, NICKLIN S, ARM D, STANFORD RE, YU Y, HARRIS R, GILLIES RM. Spinal fusion using an autologous growth factor gel and a porous resorbable ceramic. *European Spine Journal*. 2004;13(4):359-66.
133. TAYAPONGSAK P, O'BRIEN DA, MONTEIRO CB, ARCEO-DIAZ LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1994;52(2):161-5; discussion 6.
134. POWELL DM, CHANG E, FARRIOR EH. Recovery from deep-plane rhytidectomy following unilateral wound treatment with autologous platelet gel: a pilot study. *Archives of Facial Plastic Surgery*. 2001;3(4):245-50.

135. EVERTS PA, KNAPE JT, WEIBRICH G, SCHÖNBERGER JP, HOFFMANN J, OVERDEVEST EP, BOX HA, ZUNDERT A, VAN. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *The Journal of ExtraCorporeal Technology*. 2006;38(2):174-87.
136. LACOSTE E, MARTINEAU I, GAGNON G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *Journal of Periodontology*. 2003;74(10):1498-507.
137. CHOUHAN VD, DE LA CADENA RA, NAGASWAMI C, WEISEL JW, KAJANI M, RAO AK. Simultaneous occurrence of human antibodies directed against fibrinogen, thrombin, and factor V following exposure to bovine thrombin: effects on blood coagulation, protein C activation and platelet function. *Thrombosis and Haemostasis*. 1997;77(2):343-9.
138. ZEHNDER JL, LEUNG LL. Development of antibodies to thrombin and factor V with recurrent bleeding in a patient exposed to topical bovine thrombin. *Blood*. 1990;76(10):2011-6.
139. HANSEN E, DIETRICH G, KASPER SM, LEIDINGER W, SINGBARTL G, WOLLINSKY KH. Vorschläge zum internen Qualitätsmanagement bei der Retransfusion von intra- oder postoperativ gewonnenem Wund-/Drainageblut. *Anästhesiologie & Intensivmedizin*. 2002;43(2):81-4.
140. HANSEN E, BECHMANN V, ALTMEPPEN J, WILLE J, ROTH G. Ergebnisqualität bei der Maschinellen Autotransfusion und Einflussfaktoren. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*. 2004;39(9):569-75.
141. BENNETT-GUERRERO E, VELDMAN TH, DOCTOR A, TELEN MJ, ORTEL TL, REID TS, MULHERIN MA, ZHU H, BUCK RD, CALIFF RM, MCMAHON TJ. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(43):17063-8.

142. HANSEN E, KLING J, ROTH G. Der Mythos von der Sogbegrenzung bei der maschinellen Autotransfusion. *Anästhesiologie & Intensivmedizin*. 2006;47 Suppl 5(10):S118-S22.
143. NAUMENKO KS, KIM SF, CHERKANOVA MS, NAUMENKO SE. The Haemonetics Cell Saver 5 washing properties: effect of different washing pump and centrifuge speeds. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2008;7(5):759-63.
144. MARX RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dentistry*. 2001;10(4):225-8.
145. HOLME S. Storage and quality assessment of platelets. *Vox Sanguinis*. 1998;74 Suppl 2:207-16.
146. Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components. 16 ed. Strasbourg: Council of Europe; 2010.
147. CROSS MH. Cell salvage and leucodepletion. *Perfusion*. 2001;16 Suppl:61-6.
148. BARON J-F. Welcome to the new millenium. *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine*. 1999;1(4):3-5.
149. Electa Concept. Bedienungsanleitung. V. 6.05. Mirandola: Sorin Group Italia; 2003.
150. Arbeiten mit dem Haemonetics(R) Cell Saver(R) 5. Autologes Autotransfusionssystem. Bedienungsanleitung. Braintree: Haemonetics Corporation; 2001.
151. Fluoreszenz-Durchflusszytometrie in der Hämatologie (XE-5000). Sysmex Xtra. Norderstedt: Sysmex Deutschland; 2009.
152. ROTHE G, BARLAGE S, ORSO E, SCHMITZ G. Durchflusszytometrie in der klinischen Labordiagnostik. In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung

von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 1937-49.

153. THOMAS L. Immunchemische Techniken. In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 1915-37.

154. THOMAS L. Gesamt(Total)protein (TP). In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 930-4.

155. THOMAS L. Albumin. In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 939-41.

156. DOUMAS BT, WATSON WA, BIGGS HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clinica Chimica Acta*. 1971;31(1):87-96.

157. KLOTZ W, HEROLD M. Analytische Aspekte in der Bestimmung von Kalium und Magnesium. *Journal für Mineralstoffwechsel*. 2003;10 Suppl 1:29-30.

158. THOMAS L. Kalium (K). In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 446-56.

159. THOMAS L. Natrium (Na). In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 421-31.

160. Berichrom(R) Heparin. Marburg: Siemens Healthcare Diagnostics Products; 2009.

161. MÜLLER-PLATHE O. Säure-Basen-Gleichgewicht und Blutgase. In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die

medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 468-79.

162. OFFERMANN S. Thrombozytäre Signaltransduktion. In: PÖTZSCH B, MADLENER K, editors. Hämostaseologie. Berlin; Heidelberg; New York: Springer; 2010. p. 81-7.

163. KUNICKI TJ, TUCCELLI M, BECKER GA, ASTER RH. A study of variables affecting the quality of platelets stored at "room temperature". *Transfusion*. 1975;15(5):414-21.

164. SOLBERG C, HOLME S, LITTLE C. Morphological changes associated with pH changes during storage of platelet concentrates in first-generation 3-day container. *Vox Sanguinis*. 1986;50(2):71-7.

165. HOLME S, MOROFF G, MURPHY S. A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays: the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock. Biomedical Excellence for Safer Transfusion Working Party of the International Society of Blood Transfusion. *Transfusion*. 1998;38(1):31-40.

166. JUNG G, DIETERLEN A, GUERIN E, BRUNOT A, SELVA J, SCHULTZ G. Size and shape change behaviour of platelets during storage in response to hypotonic shock. *Vox Sanguinis*. 1996;70(1):50-2.

167. APACT. Bedienungsanleitung. Ahrensburg: Laborgeräte + Analysesysteme; 1990.

168. BORN GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962;194:927-9.

169. GREINACHER A. Spezielle Diagnostik bei Thrombozytopathien. In: THOMAS L, editor. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6 ed. Frankfurt/Main: TH-Books-Verlags-Gesellschaft; 2005. p. 919-22.

170. KEHREL BE. Blutplättchen: Biochemie und Physiologie. *Hämostaseologie*. 2003;23(4):149-58.
171. Asserachrom(R) beta-TG. Immunoenzymatische Bestimmung des beta-Thromboglobulins. Asnieres: Diagnostica Stago; 2005.
172. VOLPE G, DRAISCI R, PALLESCHI G, COMPAGNONE D. 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine as electrochemical substrate for horseradish peroxidase based enzyme immunoassays. A comparative study. *Analyst*. 1998;123(6):1303-7.
173. JOSEPHY PD, ELING T, MASON RP. The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates. *Journal of Biological Chemistry*. 1982;257(7):3669-75.
174. MCEVER RP, BECKSTEAD JH, MOORE KL, MARSHALL-CARLSON L, BAINTON DF. GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *The Journal of Clinical Investigation*. 1989;84(1):92-9.
175. TEDDER TF, STEEBER DA, CHEN A, ENGEL P. The selectins: vascular adhesion molecules. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 1995;9(10):866-73.
176. JOHNSTON GI, COOK RG, MCEVER RP. Cloning of GMP-140, a granule membrane protein of platelets and endothelium: sequence similarity to proteins involved in cell adhesion and inflammation. *Cell*. 1989;56(6):1033-44.
177. JOHNSTON GI, BLISS GA, NEWMAN PJ, MCEVER RP. Structure of the human gene encoding granule membrane protein-140, a member of the selectin family of adhesion receptors for leukocytes. *The Journal of Biological Chemistry*. 1990;265(34):21381-5.
178. GEARING AJ, NEWMAN W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunology Today*. 1993;14(10):506-12.

179. ISHIWATA N, TAKIO K, KATAYAMA M, WATANABE K, TITANI K, IKEDA Y, HANDA M. Alternatively spliced isoform of P-selectin is present in vivo as a soluble molecule. *The Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(38):23708-15.
180. DUNLOP LC, SKINNER MP, BENDALL LJ, FAVALORO EJ, CASTALDI PA, GORMAN JJ, GAMBLE JR, VADAS MA, BERNDT MC. Characterization of GMP-140 (P-selectin) as a circulating plasma protein. *The Journal of Experimental Medicine*. 1992;175(4):1147-50.
181. BLANN AD, LIP GY. Hypothesis: is soluble P-selectin a new marker of platelet activation? *Atherosclerosis*. 1997;128(2):135-8.
182. FERRONI P, SPEZIALE G, RUVOLO G, GIOVANNELLI A, PULCINELLI FM, LENTI L, PIGNATELLI P, CRINITI A, TONELLI E, MARINO B, GAZZANIGA PP. Platelet activation and cytokine production during hypothermic cardiopulmonary bypass – a possible correlation? *Thrombosis and Haemostasis*. 1998;80(1):58-64.
183. CHONG BH, MURRAY B, BERNDT MC, DUNLOP LC, BRIGHTON T, CHESTERMAN CN. Plasma P-selectin is increased in thrombotic consumptive platelet disorders. *Blood*. 1994;83(6):1535-41.
184. FERRONI P, PULCINELLI FM, LENTI L, GAZZANIGA PP. Is soluble P-selectin determination a more reliable marker of in vivo platelet activation than CD62P flow cytometric analysis? *Thrombosis and Haemostasis*. 1999;81(3):472-3.
185. Human soluble P-Selectin/CD62P Immunoassay. For the quantitative determination of human soluble P-Selectin (sP-Selectin) in cell culture supernates, serum, and plasma. Minneapolis: R&D Systems; 2008.
186. SZPISJAK DF. Debris elimination from partially-filled cell salvage bowls. *Anesthesia & Analgesia*. 2001;92(5):1137-8.

187. BOOKE M, AHLKE C, HAGEMANN O, HINDER F. Intraoperative Autotransfusion – Influence of Technique, Speed, and Hematocrit on Quality. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2000;27(6):307-10.
188. WATERS JH, LEE JS, KARAFATOS MT. A mathematical model of cell salvage efficiency. *Anesthesia & Analgesia*. 2002;95(5):1312-7, table of contents.
189. WATERS JH. Red blood cell recovery and reinfusion. *Anesthesiology Clinics of North America*. 2005;23(2):283-94, vi.
190. ROTHER RP, BELL L, HILLMEN P, GLADWIN MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA The Journal of the American Medical Association*. 2005;293(13):1653-62.
191. PETRIDES PE. Blut. In: LÖFFLER G, PETRIDES PE, HEINRICH PC, editors. *Biochemie und Pathobiochemie*. 8 ed. Heidelberg: Springer Medizin; 2006. p. 951-1000.
192. KRZYZANIAK JF, ALVAREZ NUNEZ FA, RAYMOND DM, YALKOWSKY SH. Lysis of human red blood cells. 4. Comparison of in vitro and in vivo hemolysis data. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1997;86(11):1215-7.
193. UNWIN RJ, LUFT FC, SHIRLEY DG. Pathophysiology and management of hypokalemia: a clinical perspective. *Nature Reviews Nephrology*. 2011;7(2):75-84.
194. YAMADA C, HEITMILLER ES, NESS PM, KING KE. Reduction in potassium concentration of stored red blood cell units using a resin filter. *Transfusion*. 2010;50(9):1926-33.
195. SZPISJAK DF, EDGELL DS, BISSONNETTE B. Potassium as a surrogate marker of debris in cell-salvaged blood. *Anesthesia & Analgesia*. 2000;91(1):40-3.

196. THIEL M, ZOURELIDIS C, PETER K. Die Rolle der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten in der Pathogenese des akuten Lungenversagens (ARDS). *Der Anaesthesist*. 1996;45(2):113-30.
197. ANSORGE S. Immunsystem. In: LÖFFLER G, PETRIDES PE, HEINRICH PC, editors. *Biochemie und Pathobiochemie*. 8 ed. Heidelberg: Springer Medizin; 2006. p. 1103-40.
198. BULL MH, BULL BS, VAN ARSDELL GS, SMITH LL. Clinical implications of procoagulant and leukoattractant formation during intraoperative blood salvage. *Archives of Surgery*. 1988;123(9):1073-8.
199. BULL BS, BULL MH. Hypothesis: disseminated intravascular inflammation as the inflammatory counterpart to disseminated intravascular coagulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994;91(17):8190-4.
200. TAWES RL, JR., DUVALL TB. Is the "salvaged-cell syndrome" myth or reality? *The American Journal of Surgery*. 1996;172(2):172-4.
201. SOLANKI DL, BLACKBURN BC. Spurious leukocytosis and thrombocytopenia. A dual phenomenon caused by clumping of platelets in vitro. *JAMA The Journal of the American Medical Association*. 1983;250(18):2514-5.
202. SAVAGE RA. Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *American Journal of Clinical Pathology*. 1984;81(3):317-22.
203. PAYNE BA, PIERRE RV. Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clinic Proceedings*. 1984;59(2):123-5.
204. LOMBARTS AJ, KIEVIET W, DE. Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. *American Journal of Clinical Pathology*. 1988;89(5):634-9.

205. SCHREZENMEIER H, MÜLLER H, GUNSILIUS E, HEIMPEL H, SEIFRIED E. Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thrombosis and Haemostasis*. 1995;73(3):506-13.
206. KORNINGER L, MUSTAFA G, SCHWARZINGER I. The Haematology Analyser SF-3000: performance of the automated white blood cell differential count in comparison to the Haematology Analyser NE-1500. *Clinical & Laboratory Haematology*. 1998;20(2):81-6.
207. ALBAN S. Pharmakologie der Heparine und der direkten Antikoagulanzen. *Hämostaseologie*. 2008;28(5):400-20.
208. SAGGAU W, SPÄTH J, TANZEEM A, STORCH HH, SCHMITZ W. Erfahrungen mit dem Haemonetics-Cell-Saver in der offenen Herzchirurgie. *Anästhesie, Intensivtherapie, Notfallmedizin*. 1982;17(1):51-7.
209. PARAVICINI D, SCHMITZ-HUEBNER U, STINNESBECK B. Heparin-Elimination bei intraoperativer Autotransfusion mit dem Haemonetics Cell Saver. *Infusionstherapie und klinische Ernährung*. 1983;10(1):19-21.
210. KLING D, BÖRNER U, BORMANN B, VON, HEMPELMANN G. Heparin-Elimination und freies Hämoglobin nach Zellseparation und Waschen autologen Blutes mit dem Cell-Saver 4. *Anästhesie, Intensivtherapie, Notfallmedizin*. 1988;23(2):88-90.
211. BORMANN B, VON, WEIDLER B, HOLLEUFER R, MÜLLER-WIEFEL H, TROBISCH H. Alternative maschinelle Autotransfusion. Hämofiltration vs. Hämo-separation. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie*. 1992;27(1):11-7.
212. ROUGE P, FOURQUET D, DEPOIX-JOSEPH JP, NGUYEN F, BARTHELEMY R. Heparin removal in three intraoperative blood savers in cardiac surgery. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology*. 1993;5(1):5-8.
213. ROGERS FB, CIPOLLE MD, VELMAHOS G, ROZYCKI G, LUCHETTE FA. Practice management guidelines for the prevention of venous thromboembolism in trauma

patients: the EAST practice management guidelines work group. *The Journal of Trauma*. 2002;53(1):142-64.

214. GEORGE JN. Platelets. *Lancet*. 2000;355(9214):1531-9.

215. ELAHI MM, MATATA BM. Should the cardiomy suction blood be cell-saver processed before retransfusion? A clinico-pathologic mystery. *Acute Cardiac Care*. 2008;10(4):227-30.

216. KARPATKIN S. Heterogeneity of human platelets. I. Metabolic and kinetic evidence suggestive of young and old platelets. *The Journal of Clinical Investigation*. 1969;48(6):1073-82.

217. HERVIG T, HAUGEN T, LISETH K, KJELDSSEN-KRAGH J, SCOTT CS, JOHANNESSEN B. The platelet count accuracy of platelet concentrates obtained by using automated analysis is influenced by instrument bias and activated platelet components. *Vox Sanguinis*. 2004;87(3):196-203.

218. POHLAND D, REDENBACHER M. Evaluierung des Hämatologieautomaten Sysmex SF-3000 unter besonderer Berücksichtigung pädiatrischer und onkologischer Aspekte. *LaboratoriumsMedizin / Journal of Laboratory Medicine*. 1998;22(1):22.

219. BRIGGS C, HARRISON P, MACHIN SJ. Continuing developments with the automated platelet count. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2007;29(2):77-91.

220. DOHAN EHRENFEST DM, BIELECKI T, DEL CORSO M, INCHINGOLO F, SAMMARTINO G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010;95(4):1280-2.

221. WEIRBACH G. Blutgerinnungsdiagnostik in der Klinik: eine methodische Anleitung. 1 ed. Berlin: Verlag Gesundheit; 1991.

222. BREDDIN HK. Can platelet aggregometry be standardized? *Platelets*. 2005;16(3-4):151-8.
223. LINDAHL TL, RAMSTRÖM S. Methods for evaluation of platelet function. *Transfusion and Apheresis Science*. 2009;41(2):121-5.
224. WANG C, MODY M, HERST R, SHER G, FREEDMAN J. Flow cytometric analysis of platelet function in stored platelet concentrates. *Transfusion Science*. 1999;20(2):129-39.
225. GEMMELL CH. Activation of platelets by in vitro whole blood contact with materials: increases in microparticle, procoagulant activity, and soluble P-selectin blood levels. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2001;12(8):933-43.
226. MAURER-SPUREJ E, CHIPPERFIELD K. Past and future approaches to assess the quality of platelets for transfusion. *Transfusion Medicine Reviews*. 2007;21(4):295-306.
227. MINTZ PD, ANDERSON G, AVERY N, CLARK P, BONNER RF. Assessment of the correlation of platelet morphology with in vivo recovery and survival. *Transfusion*. 2005;45(2 Suppl):72S-80S.
228. MURPHY S, SAYAR SN, GARDNER FH. Storage of platelet concentrates at 22 degrees C. *Blood*. 1970;35(4):549-57.
229. MURPHY S, GARDNER FH. Platelet storage at 22 degrees C: role of gas transport across plastic containers in maintenance of viability. *Blood*. 1975;46(2):209-18.
230. MURPHY S, REBULLA P, BERTOLINI F, HOLME S, MOROFF G, SNYDER E, STROMBERG R. In vitro assessment of the quality of stored platelet concentrates. The BEST (Biomedical Excellence for Safer Transfusion) Task Force of the International Society of Blood Transfusion. *Transfusion Medicine Reviews*. 1994;8(1):29-36.

231. TYNNGARD N, LINDAHL TL, TRINKS M, STUDER M, BERLIN G. The quality of platelet concentrates produced by COBE Spectra and Trima Accel cell separators during storage for 7 days as assessed by in vitro methods. *Transfusion*. 2008;48(4):715-22.
232. KIM BK, BALDINI MG. The platelet response to hypotonic shock. Its value as an indicator of platelet viability after storage. *Transfusion*. 1974;14(2):130-8.
233. SHANWELL A, DIEDRICH B, FALKER C, JANSSON B, SANDGREN P, SUNDKVIST L, SVENSSON L, VESTERINEN M, GULLIKSSON H. Paired in vitro and in vivo comparison of apheresis platelet concentrates stored in platelet additive solution for 1 versus 7 days. *Transfusion*. 2006;46(6):973-9.
234. ROCK G, MOLTZAN C, ALHARBI A, GIULIVI A, PALMER D, BORMANIS J. Automated collection of blood components: their storage and transfusion. *Transfusion Medicine*. 2003;13(4):219-25.
235. SANDGREN P, MAYAUDON V, PAYRAT JM, SJÖDIN A, GULLIKSSON H. Storage of buffy-coat-derived platelets in additive solutions: in vitro effects on platelets stored in reformulated PAS supplied by a 20% plasma carry-over. *Vox Sanguinis*. 2010;98(3 Pt 2):415-22.
236. PICKER SM, STEISEL A, GATHOF BS. Effects of Mirasol PRT treatment on storage lesion development in plasma-stored apheresis-derived platelets compared to untreated and irradiated units. *Transfusion*. 2008;48(8):1685-92.
237. YASAR AS, ERBAY AR, AYAZ S, TURHAN H, METIN F, ILKAY E, SABAH I. Increased platelet activity in patients with isolated coronary artery ectasia. *Coronary Artery Disease*. 2007;18(6):451-4.
238. IVANDIC BT, SPANUTH E, HAASE D, LESTIN HG, KATUS HA. Increased plasma concentrations of soluble CD40 ligand in acute coronary syndrome depend on in vitro platelet activation. *Clinical Chemistry*. 2007;53(7):1231-4.

239. KAPLAN KL, OWEN J. Plasma levels of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo. *Blood*. 1981;57(2):199-202.
240. MATZDORFF AC, KEMKES-MATTHES B, VOSS R, PRALLE H. Comparison of beta-thromboglobulin, flow cytometry, and platelet aggregometry to study platelet activation. *Haemostasis*. 1996;26(2):98-106.
241. TAYLOR MA. Release of beta-thromboglobulin during the preparation, in vitro storage and cryopreservation of platelet concentrates. *Journal of Clinical Pathology*. 1983;36(7):811-5.
242. EVERTS PA, BROWN MAHONEY C, HOFFMANN JJ, SCHÖNBERGER JP, BOX HA, ZUNDERT A, VAN, KNAPE JT. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelet activation and platelet growth factor release. *Growth Factors*. 2006;24(3):165-71.
243. MCLEOD BC, MCKENNA R, VIERNES A, REED S, OWENS EA, MATAYOSHI D, MOORE RC. Plateletpheresis with the COBE spectra single needle access option. *Journal of Clinical Apheresis*. 1991;6(1):24-7.
244. KAWABATA K, NAGAKE Y, SHIKATA K, FUKUDA S, NAKAZONO H, TAKAHASHI M, ICHIKAWA H, MAKINO H. Soluble P-selectin is released from activated platelets in vivo during hemodialysis. *Nephron*. 1998;78(2):148-55.
245. STEGNAR M, KNEZEVIC A, BOZIC-MIJOVSKI M. The effect of pre-analytical variables on light transmittance aggregometry in citrated platelet-rich plasma from healthy subjects. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2010;48(10):1463-5.
246. RAND ML, LEUNG R, PACKHAM MA. Platelet function assays. *Transfusion and Apheresis Science*. 2003;28(3):307-17.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3-1. Bestandteile der Latham-Glocke	26
Abbildung 3-2. Schnitt durch die Latham-Glocke.....	27
Abbildung 3-3. Arbeitsweise der Latham-Glocke	29
Abbildung 3-4. Der Autotransfusionskreislauf	31
Abbildung 3-5. Der Apheresekreislauf	34
Abbildung 3-6. Schematischer Aufbau der APACT-Messkammer	60
Abbildung 4-1. Verarbeitungszeit	70
Abbildung 4-2. Erythrozytenproduktion	72
Abbildung 4-3. Produkthämatokrit	79
Abbildung 4-4. Erythrozytenausbeute.....	84
Abbildung 4-5. Leukozytenausbeute.....	88
Abbildung 4-6. Thrombozytenausbeute.....	92
Abbildung 4-7. Proteinelimination	97
Abbildung 4-8. Albuminelimination	101
Abbildung 4-9. Elimination des freien Hämoglobins.....	105
Abbildung 4-10. Kaliumelimination.....	110
Abbildung 4-11. Heparinelimination	116
Abbildung 4-12. Thrombozytenausbeute	118
Abbildung 4-13. Gesamtzahl an Thrombozyten	121
Abbildung 4-14. Thrombozytenanreicherung.....	122
Abbildung 4-15. Gesamteiweiß	123
Abbildung 4-16. Freies Hämoglobin.....	127
Abbildung 4-17. pH-Wert.....	129
Abbildung 4-18. Mittleres Volumen der Thrombozyten.....	130

Abbildung 4-19. Thrombozytenmorphologie	135
Abbildung 4-20. Hypotonic shock response (HSR).....	136
Abbildung 4-21. Aggregometrie mit Ristocetin	141
Abbildung 4-22. Konzentration an β -Thromboglobulin.....	150
Abbildung 4-23. Konzentration an löslichem P-Selektin.....	157

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1. Gegenwärtiges Risiko einer Virusübertragung durch Bluttransfusion	3
Tabelle 1-2. Häufigkeit unerwünschter Wirkungen von Transfusionen.....	4
Tabelle 1-3. Charakteristika von postoperativ gesammeltem Drainageblut	9
Tabelle 1-4. Nachteile von freiem Hämoglobin als Qualitätsparameter der MAT	17
Tabelle 1-5. Nachteile abgelaufener Erythrozytenkonzentrate als Testblut.....	18
Tabelle 3-1. Verfahrensparameter des getesteten MAT-Geräts „Xtra®“	38
Tabelle 3-2. Scoring-System zur Beurteilung der Thrombozytenmorphologie	58

Abkürzungsverzeichnis

a	Zentrifugalbeschleunigung
ACD-A	Acidum-citricum-Dextrose, Lösung A
ADP	Adenosindiphosphat
Ag	Antigen
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome
ANH	akute normovolämische Hämodilution
APG	autologous platelet gel
ARDS	acute respiratory distress syndrome
AU	arbitrary unit
BCP	buffy coat plasma
BT55 / 125 / 175 / 225	bowl type "55 / 125 / 175 / 225 ml"
C	Celsius
C1 / 3 / 3a / 5 / 5a	complement component 1 / 3 / 3a / 5 / 5a
CD42a / 62P	cluster of differentiation 42a / 62P
CPD-1	Citrat-Phosphat-Dextrose-1
CPDA-1	Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin-1
CTAD	Citrat-Theophyllin-Adenosin-Dipyridamol
d_p	Durchmesser des Partikels
DIC	disseminated intravasal coagulation
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay
fHb	freies Hämoglobin
Fl	Flüssigkeit
g	Gramm
G	Gauge

g_n	Normalfallbeschleunigung
GMP140	granule membrane protein 140
GPIb / IIb	Glykoprotein Ib / IIb
Hb	Hämoglobin
HBs	hepatitis-B-surface
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	human immunodeficiency virus
Hkt	Hämatokrit
HSR	hypotonic shock response
IE	internationale Einheit
IL-1 α / 1 β / 6 / 8	Interleukin 1 α / 1 β / 6 / 8
l	Liter
L-PRP	leukocyte- and platelet-rich plasma
m	Meter
MAT	maschinelle Autotransfusion
min	Minute
MODS	multiple organ dysfunction syndrome
mPRP	mixed platelet-rich plasma
MPV	mean platelet volume
NAT	Nukleinsäureamplifikationstechnik
NLS	Natriumlaurylsulfat
P	probabilité
PADGEM	platelet activation dependent granule external membrane protein
Par	Parameter
PDGF	platelet-derived growth factor
Pem	emergency protocol
pH	pondus hydrogenii

PMNL	polymorphkernige neutrophile Leukozyten
Popt	optimized protocol
PP	pure plasma
PPP	platelet-poor plasma
P-PRP	pure platelet-rich plasma
PRP	platelet-rich plasma
Pstd	standard protocol
q	Variable, deren Wert auf rationale Zahlen beschränkt ist
SELP	Selektin P
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
s	soluble
t	time
TAT	Thrombin-Antithrombin-III-Komplex
TB	Testblut
TCC	terminal complement complex
Thr	Thrombozytenkonzentration
TMB	Tetramethylbenzidin
TMBH ₂	Tetramethylbenzidin-Dihydrochlorid
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
TRALI	transfusion-related acute lung injury
v_s	Sedimentationsgeschwindigkeit
V	Volt
Vol	Volumen
η_M	dynamische Viskosität des Mediums
ρ_M	Dichte des Mediums
ρ_P	Dichte des Partikels

Danksagung

All jenen, welche auf verschiedenste Art und Weise ihren Teil zu dieser Dissertation beigetragen haben, möchte ich an dieser Stelle meinen Dank aussprechen. Die im Folgenden Genannten möchte ich dabei besonders hervorheben:

Prof. Dr. Dr. Ernil Hansen danke ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie die vielfältige Unterstützung – sowohl bei der Vorbereitung und Durchführung der Experimente, als auch bei der Auswertung der Ergebnisse und der Niederschrift dieser Arbeit.

PD Dr. Norbert Ahrens danke ich für die Übernahme der zeitintensiven Begutachtung dieser Arbeit.

Der Firma Sorin, welche das MAT-Gerät „Xtra®“ sowie die dazugehörigen Einmalmaterialien für die Versuche zur Verfügung stellten, danke ich für die Kooperation.

Die Klinik für Anästhesiologie des Klinikums der Universität Regensburg unter Leitung von Prof. Dr. Bernhard M. Graf stellte dankenswerterweise das MAT-Gerät „Electa“ und einen Großteil der für die Versuche benötigten Materialien sowie die Räumlichkeiten für Durchführung und Auswertung der Experimente zur Verfügung.

Dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikums der Universität Regensburg unter Leitung von Prof. Dr. Gerd Schmitz danke ich für die stets prompte und reibungslose Bestimmung einer Vielzahl der erhobenen Parameter.

Dr. Michael Gruber, Gabriele Bollwein, Renate Lange, Regina Lindner, Marion Schindler und Ruth Späth danke ich nicht nur dafür, dass sie mich herzlich im Forschungslabor der Klinik für Anästhesiologie aufgenommen haben und mir immer wieder mit Rat und Tat zur Seite standen, sondern auch für die unschätzbare Hilfe, die sie bei der Bestimmung vieler Parameter leisteten.

Dr. Evelyn Orsó danke ich für die routinierte und kompetente lichtmikroskopische Beurteilung der Thrombozytenmorphologie.

Alberto Minguzzi, der mich mit der Funktionsweise der Xtra® vertraut machte und während der Versuche mit selbiger betreute, danke ich für sein Engagement.

Nicht zuletzt danke ich den zahlreichen freiwilligen Spender, die bereit waren, der Forschung einen Teil ihres Blutes zu überlassen.

Meiner Familie danke ich für ihren Rückhalt und die konstruktive Kritik.